



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAGLIARI**

SCUOLA DI DOTTORATO  
BIOLOGIA E BIOCHIMICA DELL'UOMO E DELL'AMBIENTE  
COORDINATORE: PROF. E. SANNA  
CICLO XXIII

SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE  
BIO/07 ECOLOGIA

Quantificazione dei fenomeni di arricchimento degli elementi in traccia lungo la catena trofica come strumento per la valutazione della qualità degli ecosistemi marini e delle risorse demersali

Tutor

Dr.ssa Elisabetta Coluccia

Dottoranda

Dr.ssa Alice Gastoni

ANNO ACCADEMICO 2009 - 2010

[Digitare il testo]

## ABSTRACT

Especially in the last centuries (Barbante et al., 2004), several anthropogenic activities have led to an increase of heavy metals global emissions (Gašpić et al., 2002; Fabris et al., 2006).

Among trace elements released in environment, some are essential for organisms (Rainbow, 1988; Bustamante et al., 2000; Canli and Atli, 2003), due to their role in metabolic functioning (Barkay et al., 1992). Others play an important role in detoxification mechanisms, whereas those defined as not essential have no known role in biological system (Bustamante et al., 2000; Canli and Atli, 2003). Not essential metals are toxic even at low concentrations, thus representing a risk for human health (Barkay et al., 1992; Edwards et al., 2001).

Heavy metals accumulation by marine organisms is a well known phenomenon (White and Rainbow, 1982; Bacci and Gaggi, 1998; Sandor et al., 2001; Canli and Atli, 2003; Mishra et al., 2007), especially in predator species at the top of the food chains (Storelli et al., 2001; Domi et al., 2005; Coelho et al., 2008; Suk et al., 2009). Predator species are often economically important and directly consumed by humans (Das et al., 2003; Debacker et al., 2001; Kai et al., 1978; Meaburn, 1978; Das et al., 2000; Storelli et al., 2001).

This study's aim was to provide data about cadmium, total mercury and lead concentrations in the muscle of *Merluccius merluccius* and *Scyliorhinus canicula*, that may be considered as good bio-indicators of the extend of these elements contamination in the Sardinian waters.

The behavior of elements was assessed in function of several parameters, with particular attention to the study of the bioaccumulation across trophic levels, estimated through stomach content analysis for both species (Schetagne et al., 2000; Storelli and Marcotrigiano, 2004; Kasper et al., 2009). Moreover, some hazard indices were calculated in order to measure potential risks for human race.

Several factors seemed to interact with feeding dynamics of both species, among these, growing is probably the most influential. In addition, changes related to the reproductive process, like the decrease of feeding intensity in *M. merluccius* or the different bathymetric distribution of the two sexes in *S. canicula*, were known to be important as well. Finally, remarkable variations in the diet were related to the availability and abundance of preys, both in terms of geographic distributions and bathymetric distribution.

Highest concentration of total mercury were found in the muscle of *S. canicula*, while lead was slightly more concentrated in *M. merluccius*. No differences for cadmium in both species were observed.

[Digitare il testo]

Specie-specific differences were likely due to an higher intake rate or to a greater susceptibility to heavy metals contamination *characteristics* of the Chondrichthyes, as previously reported by Jeffree et al (2006) and Mathews et al. (2008).

From a regulatory point of view regarding cadmium and lead, the intake of both species could be considered safe. On the contrary, health potential risks would arise from the intake of total and methylmercury.

Consequently, despite the contribution of fish to diet is fundamental in maintaining a good state of health, regular consumption of both species, especially *S. canicula*, as the high levels of mercury should be discouraged.

Moreover, it is necessary to note that intakes estimated in this work could be underestimated. They, in fact, do not take account for the intake from other food than fish, the variation in the consumption rate observed in different geographic areas, or the consumption of different tissues (liver, kidney, gonads), probably characterized by diverse concentrations of metals.

In conclusion, the output of this work has to be considered as preliminary. More wide-ranging studies are necessary in order to better assess the environmental impact of heavy metals and the health risks related to the intake of fish from Sardinian waters.

1. INTRODUZIONE	Pag. 1
2. BIOLOGIA DELLA SPECIE	Pag. 4
2.1. <i>Merluccius merluccius</i>	Pag. 4
2.2. <i>Scyliorhinus canicula</i>	Pag. 8
3. ANALISI DELLA DIETA	Pag. 12
3.1. Introduzione	Pag. 12
3.2. Materiali e Metodi	Pag. 14
3.3. Risultati	Pag. 26
3.3.1. <i>Merluccius merluccius</i>	Pag. 26
3.3.2. <i>Scyliorhinus canicula</i>	Pag. 50
3.4. Discussione	Pag. 81
4. ANALISI DEL TENORE DEGLI ELEMENTI IN TRACCIA	Pag. 85
4.1 Introduzione	Pag. 85
4.1.1 Mercurio	Pag. 87
4.1.2 Cadmio	Pag. 94
4.1.3. Piombo	Pag. 97
4.2. Materiali e Metodi	Pag. 101
4.3 Risultati	Pag. 108
4.3.1. <i>Merluccius merluccius</i>	Pag. 109
4.3.2 <i>Scyliorhinus canicula</i>	Pag. 119
4.4. Discussione	Pag. 129
5. VALUTAZIONE DEL RISCHIO	Pag. 133
5.1. Introduzione	Pag. 133
5.2. Materiali e Metodi	Pag. 135
5.3. Risultati	Pag. 138
5.4. Discussione	Pag. 140
6. CONCLUSIONI	Pag. 142
7. BIBLIOGRAFIA	Pag. 146



## INTRODUZIONE

Molteplici attività antropogeniche, tra cui la produzione di energia, l'attività industriale, il traffico autoveicolare ed il trattamento dei rifiuti solidi urbani (Siebert et al., 1991; Loppi et al., 2000; Storelli et al., 2002; Suk et al., 2009), hanno portato, specialmente negli ultimi secoli (Barbante et al., 2004), ad un incremento significativo delle emissioni di sostanze inquinanti, ed in particolar modo di metalli pesanti, su scala globale (Gašpić et al., 2002; Fabris et al., 2006).

Conseguentemente, sforzi considerevoli sono stati compiuti, soprattutto mediante l'attivazione di programmi di monitoraggio estensivo (Bollhöfer and Rosman, 2001; Slemr et al., 2003), e la stesura di inventari delle emissioni (Nriagu and Pacyna, 1988; Pacyna and Pacyna, 2001; Pacyna et al., 1984), al fine di ottenere una valutazione precisa dei flussi di tali elementi a livello globale (Barbante et al., 2004; Mishra et al., 2007).

Agli apporti antropogenici, inoltre, devono aggiungersi le emissioni derivanti da fenomeni naturali (eruzioni vulcaniche, incendi di foreste e vegetazione in genere, degassamento della superficie marina e del suolo, erosione della crosta terrestre e produzione di sabbia in seguito all'azione del vento) ritenute comunque trascurabili, eccetto nel caso di catastrofi o eventi naturali eccezionali (Pacyna et al., 1984).

Tra gli elementi in traccia rilasciati ed immessi in ambiente acquatico, alcuni, come rame, zinco e ferro, sono essenziali per il metabolismo degli organismi viventi (Rainbow, 1988; Bustamante et al., 2000; Canli and Atli, 2003), in quanto coinvolti nelle funzioni metaboliche quotidiane (Barkay et al., 1992). Altri elementi giocano un ruolo importante nei meccanismi di detossificazione, perché costituiscono il nucleo dei gruppi prostetici delle metallotioneine, piccole proteine ricche in cisteine molto comuni negli organismi superiori, che sequestrano il surplus di metalli garantendo il mantenimento dell'omeostasi e limitando, pertanto, la tossicità di determinati composti (Hamer, 1988; Olafson, 1984; Hobman et al., 2000). Altri ancora, definiti non essenziali e tra cui spiccano cadmio, piombo e mercurio (Jewett and Naidu, 2000), non hanno ruoli riconosciuti nei sistemi biologici (Bustamante et al., 2000; Canli and Atli, 2003), ma anzi esplicano un'azione tossica osservabile anche a basse concentrazioni, costituendo, quindi, un grosso rischio per la salute dell'uomo (Barkay et al., 1992; Edwards et al., 2001).

È dimostrata, infatti, la tendenza di tali elementi ad accumularsi e bioconcentrarsi negli organismi marini (White and Rainbow, 1982; Bacci and Gaggi, 1998; Sandor et al., 2001; Canli and Atli, 2003; Mishra et al., 2007), ed in particolar modo nelle specie all'apice delle reti trofiche (Storelli et al., 2001; Domi et al., 2005; Coelho et al., 2008; Suk et al., 2009), spesso destinate al consumo diretto o indiretto

da parte dell'uomo (Das et al., 2003; Debacker et al., 2001; Kai et al., 1978; Meaburn, 1978; Das et al., 2000; Storelli et al., 2001).

Pertanto, gli ultimi decenni sono stati caratterizzati da un crescente interesse della comunità scientifica e delle autorità politiche e sanitarie verso queste tematiche (Frodello et al., 2000; Domi et al., 2005; Burger et al., 2007; Regoli, 2007), finalizzato ad ottenere una maggiore comprensione delle dinamiche che regolano i fenomeni di accumulo cui tali elementi sono soggetti in ambiente e nel biota.

Sempre più spesso l'uso di organismi marini come bioindicatori è diventato uno strumento utile per quantificare la frazione biodisponibile dei contaminanti e valutare il grado di inquinamento degli ecosistemi (Fabris et al., 2006; Nakhleh et al., 2007; Coelho et al., 2008; Dierking et al., 2009), nonché di stimare il rischio per la salute umana legato al consumo di organismi marini contaminati (Storelli, 2008).

Il livello di metalli nei tessuti, ed in particolar modo nel tessuto muscolare, infatti, rappresenta una risposta dell'organismo, integrata nel tempo, all'inquinamento, e fornisce indicazioni circa la frazione dei metalli biodisponibile presente nel cibo e nell'acqua (Langston and Spence, 1995; Handersen and Wratten, 1998; Angelidis and Catsiki, 2002; Boisson et al., 2003; Canli and Atli, 2003; Casas and Bacher, 2006).

Le informazioni riguardo l'inquinamento da metalli pesanti nei nostri mari sono piuttosto limitate: alcuni autori (Schintu and Degetto, 1999; De Luca et al., 2004; Piana et al., 2006; Lafabrie et al., 2007; Schintu et al., 2009; Cherchi et al., 2009) hanno quantificato la concentrazione di svariati elementi in particolari matrici (sedimenti e colonna d'acqua) in zone considerate critiche (Portoscuso, Portovesme e Porto Torres), in quanto soggette a precise sorgenti inquinanti. Recentemente, inoltre, l'accumulo di metalli è stato valutato in alcuni organismi (*Mytilus galloprovincialis*, *Posidonia oceanica* e foraminiferi bentonici), utilizzati come bioindicatori (Lafabrie et al., 2007; Schintu et al., 2008; Cherchi et al., 2009). Nessuna informazione riguardo l'assorbimento di elementi in traccia negli organismi marini superiori è disponibile nei mari sardi.

Pertanto, in questo progetto di ricerca si è proceduto a determinare la concentrazione di cadmio, mercurio e piombo nel muscolo del nasello, *Merluccius merluccius* e del gattuccio *Scyliorhinus canicula*, utilizzati in questo caso come bioindicatori, al fine di valutare lo stato di contaminazione delle acque circostanti la Sardegna.

Il comportamento degli elementi prescelti per l'analisi è stato valutato in funzione di numerosi parametri, tra cui il sesso, lo stadio di maturità, la taglia, l'area e la profondità di campionamento. Particolare attenzione è stata dedicata allo studio del bioaccumulo in funzione del livello trofico, stimato mediante lo studio della dieta (principale via di esposizione ai metalli pesanti) di ambo le specie (Schetagne et al., 2000; Storelli and Marcotrigiano, 2004; Kasper et al., 2009):



Diversi indici di rischio sono stati calcolati col fine di individuare e quantificare eventuali rischi per la salute umana, legati al consumo delle specie esaminate, in quanto è noto che il consumo di prodotti ittici contaminati costituisce la fonte primaria di metalli pesanti per l'uomo (Plessi et al., 2001; Burger et al., 2007).

Infine, una stima dell'assorbimento settimanale è stata calcolata, sulla base delle concentrazioni degli elementi riscontrate in questo lavoro, e comparata con l'assorbimento settimanale tollerabile (PTWI) suggerito dall'organo congiunto FAO/WHO (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).

## BIOLOGIA DELLA SPECIE

### *Merluccius merluccius*

La famiglia Merlucciidae comprende 4 generi e 18 specie, la cui commercializzazione in Europa, sotto il nome generico di nasello, è economicamente molto importante e degna di nota.

*Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), comunemente noto come nasello europeo, è una specie nectobentonica ad ampia distribuzione geografica (Oceano Atlantico e Mar Mediterraneo) (Fisher et al., 1987; Papaconstatinou and Stergiou, 1995; Du Buit, 1996) (Fig 1).

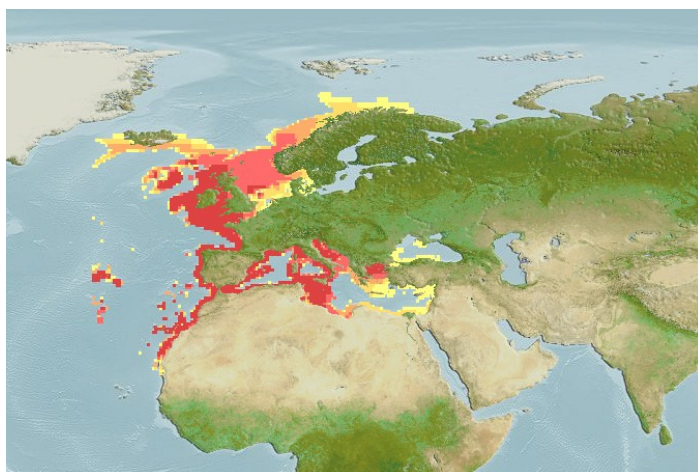


Fig. 1. Distribuzione mondiale di *Merluccius merluccius* (fonte: fishbase).

Attualmente rappresenta una delle specie demersali più sfruttate dalla pesca, stime recenti quantificano le catture mondiali di in 1-2 milioni di tonnellate, mentre per il Mediterraneo dati attuali parlano di circa 44500 tonnellate di catture all'anno (Orsi Relini et al., 2002; Palomera et al., 2005).

Ai fini gestionali, la popolazione mondiale di *Merluccius merluccius* viene suddivisa in 3 sottopopolazioni, due Atlantiche ed una Mediterranea, chiaramente distinte sia su base morfometrica che genetica (Swan et al., 2006). Nella popolazione Atlantica vengono riconosciuti due stock: entrambi si originano nel Golfo di Biscaglia, principale area di nursery per il nasello europeo (Casey and Pereiro, 1995; Sanchez and Gil, 2000). Lo stock nordico si estende dal Golfo di Biscaglia fino alla costa orientale della Norvegia, mentre lo stock del sud Atlantico si spinge fino alle coste iberiche (Pineiro and Sainza, 2003). Nel Mediterraneo occidentale la piattaforma continentale, coincidente con i fishing grounds dei depositori, rappresenta l'area di nursery più importante (Olivar et al., 2003).

La **distribuzione** batimetrica piuttosto ampia, compresa tra 25 e 1000 m (Orsi-Relini et al., 2002), conferisce al nasello un ruolo molto importante nelle comunità della piattaforma continentale e della parte superiore della scarpata (Orsi-Relini et al., 1989; Bozzano et al., 1997; Maynou et al., 2003; Lloret et al., 2008; Cartes et al., 2009).

Questa specie, inoltre, una delle più importanti dal punto di vista commerciale nelle marinerie del Mar Mediterraneo (Bozzano et al., 1997, Recasens et al., 1998, Orsi Relini et al., 2002), viene pescata mediante diversi attrezzi.



Fig. 2. Nasello europeo (*Merluccius merluccius*) (fonte: fishbase, foto di Svensen R.).

La pesca a strascico esercita la sua pressione prevalentemente sui giovanili (Aldebert and Morales-Nin, 1992; Palomera et al., 2005), i quali occupano preferibilmente l'area della piattaforma continentale (Bozzano and Catalàn, 2002; Lloret et al., 2008). Al contrario, la pesca mediante longlines cattura principalmente gli individui maturi (soprattutto femmine) (Lloret et al., 2008) che, invece, tendono ad occupare le fasce batimetriche più profonde ed i canyons (Demestre and Sanchez, 1998; Sanchez and Gil, 2000; Bozzano and Catalàn, 2002).

Una distribuzione batimetrica differenziata degli individui adulti e giovanili è stata osservata da numerosi autori in diverse aree del Mediterraneo. Bozzano et al. (2005) riportano di migrazioni verticali notturne di almeno 10-20 metri compiute dai giovanili, probabilmente in relazione all'alimentazione (Papaconstatinou and Stergiou, 1995). Comportamenti simili erano già stati osservati da Neilson and Perry (1990), soprattutto durante il primo anno di vita del nasello, e da Orsi Relini et al. (1997) per il Mar Ligure. Tali movimenti ascensionali potrebbero essere influenzati dai ritmi circadiani, regolati dalle condizioni della luce (Orsi Relini et al., 1997). Questa ipotesi verrebbe confermata dalle teorie sviluppate da Lombarte e Popper (1994) e Bozzano e Catalán (2002), i quali notarono una maggiore influenza della luce negli individui giovanili di *M. merluccius*, dovuta alle variazioni, correlate ai mutamenti nelle abitudini alimentari legati all'accrescimento (Bozzano et al., 2005), che interessano la visione e l'udito durante i primi anni di vita.

Il nasello, infatti, viene considerato un predatore attivo (Carpentieri et al., 2005), la cui dieta ed il livello trofico variano notevolmente durante tutto il ciclo vitale (Bozzano and Catalàn, 2002).

La **dieta** del nasello, basata prevalentemente su organismi bentopelagici, è stata largamente studiata, sia nelle acque atlantiche che in quelle mediterranee (Cartes et al., 2009). Gli individui giovanili predano soprattutto piccoli Crostacei (Eufausiacei, Misidacei e Decapodi Natanti), mentre il contributo dei Teleostei alla dieta diventa più importante man mano che le dimensioni corporee aumentano (Kacher, 2004; Carpentieri et al., 2005).

La **riproduzione** avviene durante tutto l'anno (Recasens et al., 1998), sebbene vengano riportati picchi riproduttivi differenti legati alla distribuzione geografica ed al sesso (Papaconstatinou and Stergiou, 1995; Orsi Relini et al., 2002). In generale, è comunemente osservata una anticipazione del picco riproduttivo nelle regioni del sud, mentre a latitudini crescenti la riproduzione viene posticipata (Casey and Pereiro, 1995).

La strategia riproduttiva adottata da *Merluccius merluccius* è peculiare: consiste, infatti, in una combinazione tra un lungo periodo di spawning, in cui si susseguono diversi eventi riproduttivi (individui immaturi, maturi e spenti sono presenti contemporaneamente) (Pineiro and Sainza, 2003), ed una elevata fecondità (Stearns, 1976; Mann and Mills, 1979). Gli individui maturi sono concentrati nelle massime densità tra i 150 e i 350 metri (Recasens et al., 1998).

Numerosi autori (Coombs and Mitchell, 1982; Marrale et al., 1996; Bjelland, 2001) hanno studiato lo sviluppo di uova e larve. La massima concentrazione di uova caratterizza la isobata dei 200 metri; la schiusa e il conseguente sviluppo embrionale sono processi della durata di pochi giorni, pertanto è raro osservare spostamenti significativi durante questa fase del ciclo vitale. Le larve rimangono planctoniche fino alla metamorfosi che avviene a circa 2 mesi dalla schiusa delle uova, ad una profondità compresa tra 50 e 150 metri (Motos et al., 1998; Sanchez and Gil, 2000). La localizzazione delle principali aree di rinvenimento delle larve è in direzione dell'oceano aperto (Maynou et al., 2003), questo implica un movimento verso la costa delle post-larve (Palomera et al., 2005), che avviene quando la lunghezza totale degli individui raggiunge i 2.5-3 cm (Oliver and Massutí 1995, Recasens et al. 1998; Orsi Relini et al. 2002; Maynou et al. 2003).

Il **reclutamento** è pressoché continuo durante tutto l'anno, grazie al susseguirsi di diversi eventi riproduttivi (Arneri and Morales-Nin, 2000); tuttavia la maggiore abbondanza di giovanili (TL < 10 cm) nella piattaforma continentale si osserva in primavera, ed un secondo picco viene registrato in autunno (Recasens et al. 1998).

Studi sull'**accrescimento** sono stati riportati da diversi autori (Orsi Relini et al., 1989; Recasens 1992; Aldebert and Morales-Nin, 1992; Morales-Nin and Aldebert, 1997; Morales-Nin et al., 1998; Morales-Nin and Moranta, 2004), tutti concordano nell'affermare che si incontrano numerosi problemi quando si tenta di quantificare i tassi di accrescimento della specie. Questo è dovuto principalmente a due fattori: la riproduzione continua, che rende complessa l'individuazione delle coorti per l'analisi della

frequenza di taglia (Morales-Nin and Aldebert, 1997); e le difficoltà legate alla lettura degli otoliti di questa specie (Morales-Nin and Aldebert, 1997; Morales-Nin et al., 1998). Conseguentemente, esistono numerose descrizioni dell'accrescimento del nasello, altamente variabili in funzione dell'area di studio e dell'interpretazione della lettura degli otoliti. In generale, per il Mediterraneo viene considerata valida una stima del tasso di crescita dell'ordine di 1,1 cm/mese (Recasens, 1992; Morales-Nin and Aldebert, 1997) con una lunghezza totale degli individui di un anno di vita compresa tra 11 e 16 cm (Morales-Nin and Aldebert, 1997).

### *Scyliorhinus canicula*

La famiglia Scyliorhinidae è la più grande e diversificata famiglia di squaliformi ancora viventi: è, infatti, costituita da 16 generi e da approssimativamente 134 specie, con distribuzione mondiale (Compagno et al., 2005; Flammang et al., 2008).

*Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) è una specie temperata ( $T^{\circ}$  ottimale: 11-17 °C) (Sanchez and Gil, 2000) ed euribaticale (Wheeler, 1969, 1978; Compagno, 1984), considerata una delle più abbondanti nelle acque costiere europee (Ellis and Shackley, 1997) e nella piattaforma continentale dell'Oceano Atlantico (Sánchez et al., 2002).

Viene segnalata nell'Atlantico del nord, dalla Norvegia fino alle isole britanniche, e nell'Atlantico del sud da dove si estende fino al Senegal ed alla Costa d'Avorio, nonché in tutto il bacino Mediterraneo (Sims et al., 2001) (Fig. 3).

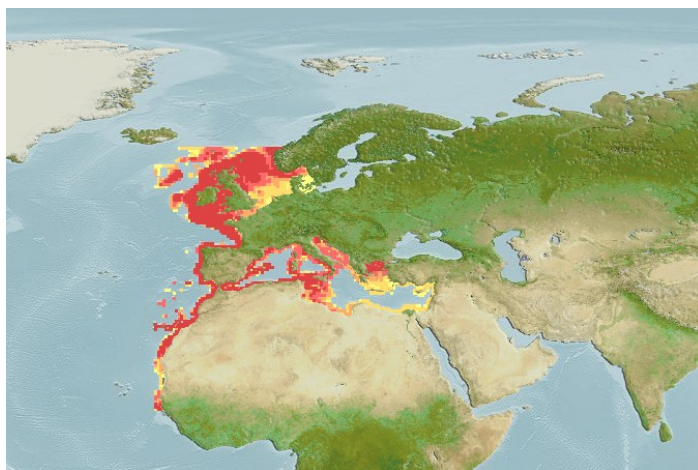


Fig. 3: Distribuzione mondiale di *Scyliorhinus canicula* (fonte: Fishbase)

Nonostante non abbia una grande importanza commerciale (Ivory et al., 2004), il gattuccio rappresenta una delle specie by-catch più comunemente catturate e sbarcate in moltissimi porti europei (Ivory et al., 2004; Rodriguez-Cabello et al., 2005). In alcune aree del Mediterraneo, invece, le carni di *S. canicula* sono particolarmente apprezzate, pertanto, la specie ha un alto valore di mercato e viene catturata con diversi attrezzi (Capapè et al., 2008; Coelho et al., 2010).

Dati recenti hanno messo in luce un incremento piuttosto rapido della pressione di pesca esercitata sul gattuccio (Correia, 2006): un aumento del 30% in soli 5 anni, per quanto concerne il quantitativo sbarcato (circa 260 tonnellate/anno), nel Mar Cantabrico è riportato da Rodriguez-Cabello et al. (2004). È necessario considerare, inoltre, che queste stime non tengono conto della frazione di scarto, che costituisce la porzione maggiore del pescato per questa specie (Olaso et al., 1998; Rodriguez-Cabello et al., 2004; Olaso et al., 2004).



Fig. 4: Gattuccio comune (*Scyliorhinus canicula*) (fonte: Fishbase, foto di Salesjö A.)

La **distribuzione** batimetrica è compresa tra 10 e 780 m, numerosi autori però riportano una localizzazione preferenziale nello strato compreso tra 30 and 300 m (Sánchez, 1993; Olaso et al., 2004). I due sessi mostrano notevoli differenze nel comportamento, che ne determinano una segregazione batimetrica differente (Sims et al., 2001). In particolare, le femmine gravide sembrano prediligere profondità maggiori (200-500 m), dove tendono ad aggregarsi anche i giovanili (Rodríguez-Cabello et al., 1998, 2004, 2007).

In numerose aree i maschi occupano le acque più profonde durante il giorno, mentre risalgono durante la notte verso acque più calde e superficiali per alimentarsi. Le femmine invece, si aggregano nelle acque più superficiali durante le ore diurne, e compiono rapide escursioni in acque più profonde durante la notte (Sims, 2005), riducendo così la sovrapposizione con i maschi che rimangono attivi durante tutta la giornata (Sims et al., 2001). Questa netta divisione degli habitats sembra essere legata al comportamento aggressivo che caratterizza la fase di corteggiamento ed accoppiamento nella specie (Sims, 2005).

Il gattuccio è considerato un predatore generalista che gioca un ruolo ecologico significativo nella strutturazione delle reti trofiche delle comunità demersali (Bowen, 1997), rappresentando l'anello di congiunzione tra gli invertebrati ed i predatori più grandi (Storelli et al., 2005; Coelho et al., 2008). Studi basati sulla tecnica della marcatura e ricattura hanno dimostrato che gli individui adulti hanno areali di alimentazione relativamente piccoli, in cui tendono a consumare con maggiore frequenza le categorie di prede più rappresentate (Sims et al., 2001, 2006; Filer et al., 2008).

La **dieta** di *S. canicula*, infatti, si basa su un'ampia gamma di prede della fauna megabentonica (Policheti, Sipunculidi e Molluschi, prevalentemente Cefalopodi), anche se Crostacei Decapodi e Teleostei bentici ed epibentici rappresentano la principale fonte di cibo (Ellis et al., 1996; Olaso et al., 1998; Storelli et al., 2002; Domi et al., 2005; Rodríguez-Cabello et al., 2007). Anche lo scavenging costituisce una parte integrante della dieta, soprattutto per quanto riguarda le prede bentoniche (Olaso et al., 1998, 2002; Sims et al., 2001), e gli animali danneggiati o morti durante le operazioni di



pesca (Kaiser and Spencer, 1994). A questo proposito l'elettroreazione gioca un ruolo fondamentale, in quanto sostituisce odorato ed olfatto quando lo stimolo alimentare arriva da brevi distanze (raggio di 5-15 cm) (Kalmijn, 1971, pers. com.; Kimber et al., 2009).

Lo studio dei contenuti stomacali ha dimostrato che, nonostante le note differenze comportamentali, i due sessi presentano diete simili (Lyle 1983), tale similarità però potrebbe essere legata più alla abbondanza delle prede che ad una preferenza predatoria o alla capacità sensoriale del gattuccio (Kimber et al., 2009).

Come la maggior parte degli sciliorinidi, *S. canicula* è una specie ovipara (Kormanik, 1993) che depone le proprie uova telolecitiche all'interno di capsule protettive (Thomason et al., 1994, 1996; Ellis and Shackley, 1997). Queste vengono deposte in coppie ed ancorate a substrati solidi (spugne, idroidi, coralli e Briozoi) o macroalghe (Wheeler, 1978). La capsula non si limita a fornire protezione meccanica all'embrione, ma funge anche da barriera osmotica, permettendo il passaggio di piccole molecole ed acqua (Kormanik, 1993). L'incubazione dura un lasso di tempo variabile (6-10 mesi) ed è strettamente dipendente dalla temperatura dell'acqua (Capapè, 1977; Ellis and Shackley, 1997). I maschi sono sessualmente attivi durante tutto l'anno (Sims, 2005), mentre le femmine possono conservare lo sperma del partner per lunghi periodi di tempo, esercitando un certo controllo sulla durata del processo riproduttivo (Metten, 1939) che risulta, pertanto, piuttosto esteso (Capapè et al., 1991) se non addirittura continuo (Sumpter and Dodd, 1979). Durante tutto il periodo riproduttivo le capsule vengono emesse con una certa regolarità (Harris, 1952), con tassi di fecondità estremamente variabili (Ellis and Shackley, 1997).

La specie, inoltre, presenta un comportamento filopatrino, ovvero tende a tornare negli stessi luoghi per la riproduzione, tuttavia le aree di deposizione e nursery sono sconosciute, anche se si suppone che ambo i processi avvengano nelle acque superficiali costiere (Rodriguez-Cabello et al., 2004).

Le informazioni sul **reclutamento** e sull'**accrescimento** sono molto limitate. Il reclutamento sembra avvenire nei periodi estivo-invernale, con punte massime in autunno, come affermato da Carbonell et al. (2003) e da Massuti e Reñones (2005).

Lo sviluppo dell'embrione è influenzato dalla latitudine ma non dal fotoperiodo, in particolare embrioni caratteristici di latitudini maggiori presenterebbero anche maggiori dimensioni alla schiusa (Thomason et al., 1996).

La taglia massima riportata per l'Oceano Atlantico è 100 cm (Compagno, 1984; Quero, 1984), tuttavia, esemplari sopra gli 80 cm sono raramente osservati (Vas, 1991; Rodriguez-Cabello et al., 1997; Ivory et al., 2004). La taglia, inoltre, risulta fortemente influenzata dalla variazione di latitudine: la specie in Mediterraneo è, infatti, caratterizzata da dimensioni inferiori, anche per quanto riguarda la schiusa, la maturità e la lunghezza massima, rispetto a quanto osservato per la specie in Atlantico (Garman, 1913; Leloup and Olivereau, 1951; Mellinger et al. 1984). In generale, il tasso di accrescimento della specie viene considerato relativamente lento, in linea con la tendenza complessiva per gli elasmobranchi (Collenot, 1966).



La durata del ciclo vitale della specie è sconosciuta, una stima riportata da Rodriguez-Cabello et al. (2005) assegna al gattuccio una longevità massima di 17 anni, basata su parametri di crescita calcolati per l'area del Mar Cantabrico.

## ANALISI DELLA DIETA

### Introduzione

La stima del livello trofico delle specie è fondamentale per l'attuazione di una corretta gestione delle risorse e per la quantificazione degli effetti negativi dell'azione dell'uomo sugli ecosistemi (Stergoiu and Karpouzi, 2002).

Il livello trofico fornisce, infatti, informazioni sul comportamento di una data specie all'interno di una determinata rete trofica, spiegando come ogni organismo tenda ad operare una sorta di controllo sugli altri organismi all'interno di un ambiente (Maynou and Cartes, 1998; Pauly et al., 2000).

L'idea di utilizzare il livello trofico per rappresentare le interazioni preda-predatore risale agli anni settanta, quando Odum, il padre dell'ecologia moderna, sviluppò questo concetto nel corso dei suoi studi sull'ecologia degli ecosistemi (Mearns, 1982).

Per la sua determinazione ci si basa sull'assunto secondo cui il livello trofico di un predatore, ovvero la posizione che questo occupa nella rete trofica, è un gradino superiore a quello della sua preda; ne consegue che il livello trofico del predatore è uguale alla somma del livello trofico della sua preda più uno.

Tuttavia, gli organismi marini spesso consumano più categorie di prede, caratterizzate a loro volta da differenti livelli trofici, facendo sì che la determinazione del livello trofico di una specie risulti definitivamente più complessa nella pratica che nella teoria. Numerosi fattori, infatti, sia abiotici che biotici, inducono variazioni nelle abitudini alimentari di un organismo, soprattutto all'interno di strutture trofiche complesse come quelle degli ecosistemi marini (Mearns, 1982).

La determinazione del livello trofico di un organismo permette, inoltre, di valutare l'effetto dell'inquinamento sugli ecosistemi (Kasper et al., 2009). Secondo una regola generale, infatti, la predazione di organismi più piccoli da parte di animali più grandi, spesso al top delle reti trofiche, produce un trasferimento verso l'alto del flusso di energia derivante dal cibo (Mearns, 1982). Parallelamente al trasferimento energetico, anche un flusso di contaminanti persistenti, ingeriti via alimentazione, viene traslocato da un livello trofico al livello successivo (Mathews et al., 2008), subendo, talvolta, processi di bioaccumulo e biomagnificazione (Young et al., 1980).

Numerosi studi riportano, infatti, casi di concentrazioni crescenti di contaminanti persistenti (soprattutto metalli pesanti) lungo le reti trofiche (Lemly, 1993; Barron, 1995; Sydeman and Jarman,

1998) degli ecosistemi marini (Denton and Burdon-Jones, 1986; Lacerda et al., 1994; Wiener and Spry, 1996; Watras et al., 1998; Snodgrass et al., 2000; Burger et al., 2001).

Lo studio dei contenuti stomacali di un organismo è stato a lungo uno dei metodi più utilizzati per la valutazione del livello trofico occupato da una specie (Stergoiu and Karpouzi, 2002; Domi et al., 2005). Oggigiorno, viene spesso considerato “classico” e trascurato, per la moltitudine di problemi ad esso associati, come le difficoltà legate al corretto riconoscimento e alla corretta quantificazione di alcune categorie di prede, come ad esempio organismi gelatinosi e detrito (Polulin and Pinnegar, 2000; Stergoiu and Karpouzi, 2002).

Ciononostante, questo metodo comporta indubbi vantaggi legati alla determinazione del numero di prede ingerite e delle loro dimensioni, spesso molto utili, se non fondamentali, nell’interpretazione dei risultati ottenuti con altre metodiche, considerate più evolute, quali l’analisi degli isotopi stabili e lo studio della composizione degli acidi grassi (Hiroshi, 2002).

In questo lavoro di tesi, pertanto, l’analisi dei contenuti stomacali è stata utilizzata per la determinazione del livello trofico delle specie al fine non solo di chiarire le relazioni trofiche che le caratterizzano, ma anche di verificare l’esistenza di una diretta correlazione tra il tenore degli elementi in traccia e la posizione trofica occupata dagli organismi, valutando, inoltre, eventuali fenomeni di arricchimento lungo la catena trofica riconducibili ad un assorbimento via dieta.

## Materiali e Metodi

### *Area di studio*

La Sardegna, con una superficie pari a circa 24000 km<sup>2</sup>, è la seconda isola per dimensioni in tutto il bacino Mediterraneo. Grazie alla notevole estensione delle coste, ben 1896.8 km, corrispondenti a circa il 23% della linea di costa italiana, l'isola è uno dei centri turistici più apprezzati a livello mediterraneo (Piana et al., 2006).

L'indotto derivante dal settore turistico, infatti, congiuntamente all'allevamento di bestiame ed all'agricoltura, rappresentano la base dell'economia isolana (Schintu et al., 2009).

Inoltre, in virtù della sua collocazione geografica all'interno dell'area mediterranea, la Sardegna svolge un ruolo strategico per quanto concerne gli scambi commerciali marittimi nazionali ed internazionali.

L'Italia, infatti, funge da hub sia per i traffici marittimi intra-mediterranei, sia per quelli legati alle rotte tra l'Estremo Oriente e il Nord Europa ed, in prospettiva, anche per le rotte tra l'Estremo Oriente, il Mediterraneo ed il Nord America, in relazione alla crescente esigenza di evitare il trasporto di attraversamento degli Stati Uniti nei traffici fra Asia e costa atlantica.

Di conseguenza, il traffico marittimo nei principali porti nazionali risulta piuttosto sostenuto, con punte massime durante la stagione estiva, ed è stimato in circa 145500 imbarcazioni all'anno (circa 24838 TEUs x 1000) (Siviero, 2002). Stime recenti (REMPEC, 2008) attestano in oltre 360 milioni di tonnellate/anno la quantità di prodotti petroliferi, chimici ed inquinanti in transito nel bacino. A tale stima, corrispondente a circa il 20% dell'intero traffico mondiale, è necessario sommare i quantitativi (circa 100 milioni di tonnellate) legati ai processi di sviluppo dell'oleodotto del Mar Caspio, per avere un quadro chiaro dell'alto rischio di disastro ambientale per incidenti e/o sversamenti cui è sottoposto l'intero sistema costiero nazionale.

In questo contesto, il solo porto di Cagliari, considerato uno dei grandi porti di transhipment nel Mezzogiorno (Siviero, 2002), gestisce un traffico di grosse imbarcazioni e petroliere stimato in 26 milioni di tonnellate/annue circa di prodotti chimici e petroliferi.

Sul territorio isolano va annoverata, inoltre, la presenza di alcune centrali termoelettriche e poli industriali, rappresentati prevalentemente dall'area di Portovesme e di Porto Torres-Fiume Santo. Questi operano come sorgenti di inquinamento puntiforme per contaminanti organici ed inorganici, il cui destino finale è rappresentato prevalentemente dagli ecosistemi acquatici (Schintu and Degetto, 1999; De Luca et al., 2004).

Una stima dell'ammontare totale di emissioni di cadmio, mercurio e piombo derivanti da fonti industriali locali per il 2001, ottenuta grazie alla consultazione delle dichiarazioni EPER relative a tutti gli stabilimenti presenti nell'isola, è riportata nella Tab. 1.

L'emissione di mercurio, sia in forma organica che inorganica, è quantificata in poco più di 70 kg/anno, prevalentemente rilasciati in atmosfera dagli impianti Syndial di Porto Torres e UB Sulcis di Portoscuso (Tab. 1). Per quanto concerne il cadmio, invece, circa 1,5 tonnellate/anno vengono prodotte ed emesse durante i processi di incenerimento dei rifiuti, combustione superiore a 300 MW, e produzione primaria e secondaria di metalli e impianti di sinterizzazione (Tab. 1). Circa il 75% di questo ammontare viene scaricato direttamente in fognatura e da qui raggiunge gli ecosistemi acquatici. Il rilascio di piombo è stimato in poco meno di 10 tonnellate/anno ed interessa prevalentemente la matrice aria, che rappresenta oltre il 50% delle emissioni totali (Tab. 1).

Tab. 1: Emissioni di cadmio (Cd), mercurio totale (THg), e piombo (Pb) relative all'anno 2001 per il territorio sardo

Elemento	Tipo di emissione	kg/anno emissione
Cadmio (Cd)	Scarico diretto nell'acqua	45.7
Cadmio (Cd)	Scarico diretto nell'aria	341.7
Cadmio (Cd)	Scarico in fognatura (trattamento acque reflue)	1030.3
Mercurio totale (THg)	Scarico diretto nell'acqua	7.1
Mercurio totale (THg)	Scarico diretto nell'aria	61.5
Mercurio totale (THg)	Scarico in fognatura (trattamento acque reflue)	4.0
Piombo	Scarico diretto nell'acqua	150.2
Piombo	Scarico diretto nell'aria	5843.0
Piombo	Scarico in fognatura (trattamento acque reflue)	3438.8

Il destino di buona parte delle emissioni atmosferiche, inoltre, dipende fortemente dai venti, che sono in grado di trasportare per lunghe distanze gli elementi in questione, soprattutto quelli più volatili come il mercurio. L'azione del vento di maestrale, che soffia in direzione nord-ovest per buona parte dell'anno sul territorio sardo, pertanto, deve essere tenuta in considerazione nella valutazione dello stato di inquinamento degli ecosistemi costieri.

I campioni utilizzati in questa tesi provengono dai mari circostanti la Sardegna suddivisi in sette zone, denominate con numeri progressivi da 1 a 7, a loro volta ripartite in 5 strati batimetrici indicati mediante lettere (Fig. 5).

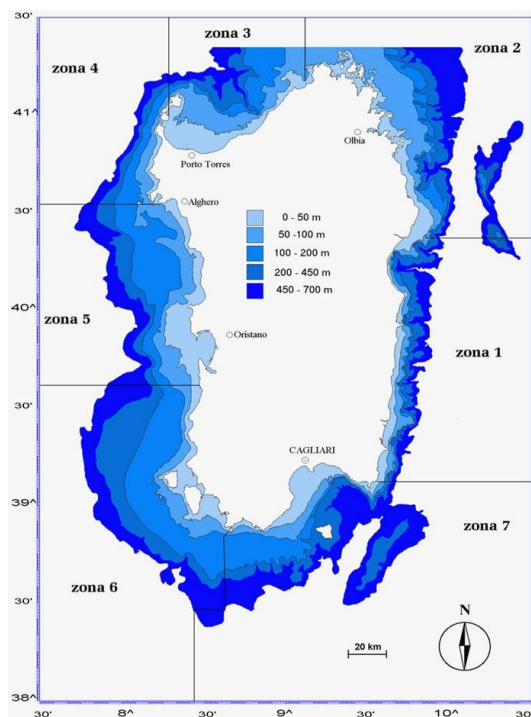


Fig. 5: Stazioni di campionamento e relativi strati batimetrici

Le concentrazioni di mercurio, cadmio e piombo nei sedimenti delle sette stazioni sono riportati in Tab. 2.

Tab. 2: Concentrazione di mercurio totale (THg), cadmio (Cd), e piombo (Pb) nei sedimenti delle sette stazioni di campionamento (Si. Di. Mar, 2006; Schintu et al., 2009).

Areas	Hg mg/Kg dw	Si.Di.Mar		Schintu et al., 2009
		Cd mg/Kg dw	Pb mg/Kg dw	Hg mg/Kg dw
Zona 1	0,083	0,567	15,323	0,050
Zona 2	0,077	0,050	4,476	0,050
Zona 3	0,071	0,050	2,863	0,080
Zona 4	0,142	0,070	28,250	0,050
Zona 5	0,290	0,219	29,104	0,140
Zona 6	0,099	0,260	14,755	0,080
Zona 7	0,200	0,063	48,751	0,040

## Analisi della dieta

L'analisi della dieta ha interessato 620 individui di *Merluccius merluccius* e 350 di *Scyliorhinus canicula*; i range di lunghezza totale e di profondità di cattura sono riportati in Tab. (Tab. 3).

Tab. 3: Numero totale, range di lunghezza totale (TL, in cm) e di profondità di cattura per *Merluccius merluccius* e *Scyliorhinus canicula*.

Specie	N	TL (Mean±SD)	Depth
<i>Merluccius merluccius</i>	620	6.5-73.4 (18.9±6.7)	39-600
<i>Scyliorhinus canicula</i>	350	15.1-51.0 (33.8±10.5)	34-616

Per ogni esemplare sono state rilevate le principali biometrie quali: Lunghezza totale (TL) espressa in centimetri (cm), Peso Totale (TW), Peso Eviscerato (EW), e Peso dello Stomaco (SW), rilevati in grammi, mediante una bilancia analitica a 4 cifre decimali.

L'estrazione degli stomaci è avvenuta mediante una incisione longitudinale della cavità addominale, cui è seguito il taglio dello stomaco all'altezza dell'esofago e dell'intestino all'altezza del piloro (Amezaga-Herrán, 1988; Morte, 2002).

Non appena effettuata l'estrazione, tutti gli stomaci sono stati fissati in una soluzione di formalina diluita al 5% in acqua di mare, al fine di bloccare l'attività digestiva. Il riconoscimento tassonomico è avvenuto mediante l'ausilio di un microscopio binoculare a luce trasmessa con un angolo di 45° ad ingrandimento variabile tra 7x e 30x.

Tutte le prede sono state suddivise per macrocategorie, classificate fino al più basso livello tassonomico possibile e contate. Le parti dure (otoliti, becchi, setole e chelipedi, rostro e parti del carapace), di grande aiuto per la determinazione delle specie, e le prede rinvenute integre sono state fotografate e conservate in alcool al 70%.

Al fine di stimare l'importanza degli stomaci vuoti nel nostro campione, il coefficiente di vacuità (VI) è stato calcolato secondo la formula (Morte, 2002):

$$VI = \left( \frac{Nv}{N} \right) 100$$

In cui:

$Nv$  = numero di stomaci vuoti

$N$  = numero totale di stomaci analizzati

Tra i diversi metodi utilizzati nell'analisi dei contenuti stomacali, sono stati applicati il metodo numerico (Hyslop, 1980; Amezaga-Herràn, 1988) e quello ponderale (Windell, 1971; Berg, 1979; Hyslop, 1980).

Il metodo numerico esprime la porzione di ogni tipo di preda in relazione al numero totale di prede trovate negli stomaci analizzati, risultando pertanto adatto allo studio di animali la cui dieta è composta da piccole prede. Permette di ricavare stime generali sulla disponibilità di un determinato tipo di alimento e sulla selettività dei predatori (Hyslop, 1980; Amezaga-Herràn, 1988; Morte, 2002). In accordo con questo metodo, l'indice di frequenza percentuale (F%) e l'indice di abbondanza percentuale (Cn%) sono stati calcolati secondo le formule suggerite da Hyslop (1980).

L'indice di frequenza percentuale, indicato da F%, è rappresentato dal rapporto tra il numero degli stomaci contenenti una data preda ( $n$ ) ed il numero degli stomaci contenenti cibo  $N_1$

$$F\% = \frac{n}{N_1} \times 100$$

mentre l'indice di abbondanza percentuale, Cn%, indica la relazione tra  $N_c$  numero di individui di una data preda ed  $N_p$  il numero totale delle prede.

$$Cn\% = \frac{N_c}{N_p} \times 100$$

I maggiori svantaggi, relativi all'utilizzo di questo metodo, consistono nel fatto che non tiene conto della taglia delle prede e che esiste una eccessiva preponderanza degli organismi che presentano parti dure più persistenti e facilmente riconoscibili (Amezaga-Herràn, 1988).

In seguito, le prede sono state suddivise in tre categorie in base al valore del loro indice di abbondanza, Cn, in: prede preferenziali ( $Cn > 50\%$ ), prede secondarie ( $10\% < Cn < 50\%$ ) e prede occasionali ( $Cn < 10\%$ ) (N'DA, 1992).

Il metodo gravimetrico si basa sul peso delle prede, secco o umido, rilevato in maniera diretta. I risultati sono espressi come percentuale del peso di ognuna delle categorie di prede sul peso totale dei contenuti stomacali (Morte, 2002). La formula utilizzata per calcolare la percentuale in peso della preda (W%) è la seguente:

$$W\% = \frac{Pp}{PTp} \times 100$$

In cui  $Pp$  è il peso degli individui di una data preda mentre  $PTp$  rappresenta il peso totale delle prede ingerite dallo stock esaminato.



Ciascun indice fornisce differenti informazioni sulle abitudini alimentari di una specie, ma se considerato singolarmente risulta insufficiente per la determinazione dell'importanza di una data preda nella dieta della specie in esame. Pertanto, l'importanza quantitativa di ogni categoria di prede all'interno della dieta, è stata determinata attraverso l'Indice di Importanza Relativa (I.R.I.) (Pinkas et al., 1971), modificato da Carrassòn et al. (1997). Tale indice combina numero e peso delle prede, e viene calcolato sommando le percentuali in numero e volume, e moltiplicando questa somma per l'indice di frequenza percentuale.

$$I.R.I. = (W\% + Cn\%)F\%$$

L'IRI assume valori compresi tra 0 e 20000, massimi nel caso di una dieta monospecifica. Oltre che in valore assoluto, il contributo di quest'indice è stato calcolato anche come valore percentuale di ciascuna preda i-esima (Cortés, 1997):

$$\%I.R.I._i = \frac{I.R.I._i}{\sum_{i=1}^n I.R.I._i} \times 100$$

In cui  $\%I.R.I._i$  è il valore dell'indice I.R.I. riferito alla categoria dei prede i-esima ed  $n$  è il numero totale di categorie di prede.

Il grado di specializzazione alimentare della specie, inoltre, è stato valutato attraverso l'analisi della diversità trofica ed il calcolo dell'ampiezza della nicchia trofica (Hyslop, 1980).

La diversità della dieta è stata investigata impiegando l'indice di Shannon-Wiener (Shannon and Wiener, 1963; Pielou, 1984). Tale indice, indicato con  $H'$ , attribuisce ad ogni preda un "peso" legato alla presenza e all'abbondanza. Viene calcolato sia in termini numerici:

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left[ \left( \frac{n_i}{N} \right) \ln \left( \frac{n_i}{N} \right) \right]$$

$n_i$  = numero di individui appartenenti alla i-esima specie;

$N$  = numero totale di individui;

$S$  = numero di specie

sia in termini ponderali:

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left[ \left( \frac{p_i}{P} \right) \ln \left( \frac{p_i}{P} \right) \right]$$

$p_i$  = peso degli individui appartenenti alla i-esima specie;

$P$  = peso totale degli individui;

S= numero di specie.

Teoricamente, il suo valore oscilla tra 1.5 e 3.5, e raramente supera il valore di 4 (Margalef, 1972; Magurran, 1988);  $H'$  è minimo quando la dieta si basa sullo sfruttamento di poche specie, mentre diviene massimo quando la dieta è ampiamente diversificata.

La ripartizione delle abbondanze delle prede nella dieta è stata misurata mediante l'indice di equitabilità, detto anche di Evenness ( $J$ ), che indica il rapporto tra la diversità osservata ( $H'$ ) e la massima diversità teorica possibile ( $H'_{max}$ ) di una determinata comunità, corrispondente alla massima ripartizione delle risorse. Non dipende dalla ricchezza di specie, ma unicamente dalla distribuzione delle abbondanze degli individui.  $J$  viene calcolato secondo la formula:

$$J = \frac{H'}{H'_{max}}$$

L'indice assume valori compresi tra 0 ed 1: valori prossimi allo zero suggeriscono che la dieta è composta da poche prede, mentre valori prossimi a uno indicano una simile ripartizione per tutte le prede all'interno della dieta.

L'ampiezza della dieta è stata studiata attraverso l'indice standardizzato di Levin ( $B_i$ ) (Krebs, 1999), il quale misura l'uniformità della distribuzione delle prede nella dieta delle specie. L'indice è calcolato utilizzando la seguente formula:

$$B_i = \frac{1}{n-1} \left( \frac{1}{\sum_j p_{ij}^2} - 1 \right)$$

Dove  $p_{ij}$  rappresenta la proporzione di una particolare categoria di prede  $j$  nella dieta della specie  $i$  e  $n$  è il numero delle prede. Il valore dell'indice varia da 0 a 1, è massimo quando la dieta appare generalista, ovvero tutte le categorie di prede sono sfruttate ugualmente, (Krebs, 1999), mentre è minimo in relazione ad abitudini alimentari altamente specialistiche.

L'indice di Morisita ( $C_{ik}$ ) è stato utilizzato per analizzare il grado di sovrapposizione della dieta (Krebs, 1999; Hall et al., 1990). L'indice può assumere valori compresi tra 0 ed 1, ma in generale viene ritenuto significativo dal punto di vista biologico quando super il valore di 0.60 (Macpherson, 1981). La formula utilizzata per la valutazione della sovrapposizione della dieta è la seguente:

$$C_{ik} = \frac{2 \sum p_{ij} p_{kj}}{\sum p_{ij}^2 + \sum p_{kj}^2}$$

In cui  $p_{kj}$  rappresenta la proporzione della categoria di prede  $j$  nella dieta della specie  $k$  mentre  $p_{ij}$  è la porzione della categoria di prede  $j$  nella dieta della specie  $i$ .

La dieta delle due specie, inoltre, è stata considerata in funzione del sesso, dello stadio di maturità sessuale (Immature, Mature e Spent), della profondità ed area di campionamento, ed infine della taglia.

A questo proposito gli esemplari sono stati suddivisi in tre classi di taglia, indicate come Small, Medium e Big, e caratterizzate da range differenti in relazione alla specie (vedi Tab. 4).

Tab. 4: Classi di taglia utilizzate per la valutazione delle variazioni ontogenetiche nella dieta

Size class	<i>M.merluccius</i>	<i>S.canicula</i>
Small	<15 cm TL	<30 cm TL
Medium	15>TL cm <30	30>TL cm <45
Big	>30 cm TL	>45 cm TL

L'analisi dei cluster, basata sui valori dell'indice di similarità di Bray-Curtis, è stata utilizzata per descrivere similitudini ed eventuali differenze inter ed intraspecifiche nella dieta. La similarità di Bray-Curtis, largamente impiegata nell'analisi multivariata per determinare similarità tra i campioni biologici, è stata preferita rispetto ad altre misure di similarità in quanto più adatta allo studio di assiomi biologici naturali (Clarke and Gorley, 2006; Yoshioka, 2008). La tecnica del clustering consiste in un insieme di tecniche di analisi multivariata dei dati, volte alla classificazione di unità statistiche in gruppi omogenei in base a determinate variabili. L'analisi pertanto si basa sul raggruppamento degli elementi a seconda della distanza, e quindi dell'appartenenza o meno ad un dato insieme. Per avvalorare i risultati ottenuti ci si è avvalsi, inoltre, del Multi-Dimensional Scaling (MDS): tale analisi permette di rappresentare il nostro campione come una serie di punti distribuiti nello spazio avente due dimensioni. La disposizione dei punti è tale che dissimilarità e similarità presentano lo stesso ordine di grandezza. L'interpretazione dei grafici MDS è piuttosto immediata: punti vicini indicano individui simili, mentre all'aumentare della distanza tra i punti cresce anche la differenza tra loro (Clarke and Gorley, 2006). Il valore di stress può essere utile nell'identificazione della distanza relativa dei punti rispetto alla zona di massima fitting. Generalmente, valori di stress inferiori a 0.2 indicano una buona rappresentazione, mentre rappresentazioni caratterizzate da valori superiori a 0.3 vengono solitamente scartate.

Infine, il test Simper (Similarity Percentage) è stato utilizzato per ottenere informazioni circa il contributo di ogni singola specie alle differenze osservate tra i vari campioni. Il test si basa sui valori percentuali di abbondanza e frequenza di ogni preda, sulla base dei quali viene creata una lista di specie in ordine crescente di importanza.

Le analisi di Cluster, MDS ed il test Simper sono stati performati grazie all'ausilio del pacchetto PRIMER v6 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research).

La determinazione del livello trofico, ovvero della posizione occupata da ciascuna specie all'interno della rete trofica in relazione alle abitudini alimentari specifiche, è avvenuta mediante il calcolo del livello trofico, indicato come *troph*, mediante la metodologia suggerita da Pauly et al. (2000).

$$troph = 1 + \sum_{j=1}^G DC_{ij} * troph_j$$

In cui  $DC_{ij}$  è la frazione della preda  $j$  nella dieta della specie  $i$ ,  $troph_j$  è il livello trofico della preda e  $G$  il numero dei taxa consumati dalla specie  $i$ . I valori del livello trofico si aggirano tra 0 e 2 per gli organismi erbivori e detritivori, mentre possono arrivare a 5 nel caso di organismi predatori (Pauly et al., 2000; Stergiou and Kapouzi, 2002).

Nel calcolare il livello trofico di una specie è inoltre necessario considerare l'errore standard ad esso associato, che tenga conto dell'errore standard del livello trofico delle singole categorie di prede consumate dalla specie in esame. La formula per il calcolo dell'errore standard (s.e.), suggeritaci da Pauly et al. (2000) è la seguente:

$$s.e. = \sqrt{\frac{(s.e.)^2 * (P_1 - 1) + (s.e.)^2 * (P_2 - 1) \dots (s.e.)^2 * (P_G - 1)}{\sum P - G}}$$

In cui s.e. è l'errore standard associato al livello trofico della categoria di prede,  $P_1$  è il contributo percentuale della categoria di prede 1 nella dieta totale,  $G$  è il numero di categorie facenti parte della dieta della specie e  $P$  rappresenta la composizione totale della dieta costituita dalle singole categorie di prede.

In seguito all'attribuzione del livello trofico, è inoltre possibile determinare la collocazione di ogni gruppo analizzato all'interno di una categoria, determinata sulla base di un dato range di livello trofico, così come indicato da Stergiou and Karpouzi (2002). Queste categorie, definite come gruppi funzionali trofici generali, vengono riportate di seguito:

- a) Erbivori puri, con TROPH compreso tra 2.0 e 2.1 (mean±SD = 2.02±0.03). Si nutrono esclusivamente di Alghe e Fanerogame marine.
- b) Onnivori con una preferenza per la materia vegetale, con TROPH compreso tra 2.1 e 2.9 (mean±SD = 2.50±0.12). Nonostante prediligano consumare Alghe e Fanerogame, all'occorrenza sfruttano anche altre categorie di prede quali Spugne, Idrozoi ed Antozoi, Policheti, Ostracodi, Anfipodi, Copepodi ed Isopodi.
- c) Onnivori con una preferenza per gli animali, con TROPH compreso tra 2.9 e 3.7 (mean±SD = 3.40±0.19). Questo gruppo comprende numerose specie caratterizzate da una ampia varietà

di prede e distribuite principalmente negli habitats batipelagici, bentopelagici e demersali.

- d) Carnivori con una preferenza per Crostacei Decapodi, Cefalopodi e Teleostei, con TROPH compreso tra 3.7 e 4.5. Nonostante le specie appartenenti a questo gruppo occupino tutti i tipi di habitats, gli ambienti preferenziali sono rappresentati da ecosistemi batidemersali, pelagici ed associati alle barriere coralline. All'interno di questa categoria possono distinguersi, inoltre, due sottocategorie: una in cui l'alimentazione si basa anche sul consumo di Policheti, piccoli Crostacei, Molluschi ed Echinodermi (TROPH compreso tra 3.7 e 4.0,  $\text{mean} \pm \text{SD} = 3.85 \pm 0.09$ ); l'altra che preferenzialmente si sostiene nutrendosi di Teleostei e Cefalopodi ma sfrutta anche altre categorie di prede quali Crostacei e Decapodi (TROPH compreso tra 4.0 e 4.5,  $\text{mean} \pm \text{SD} = 4.38 \pm 0.12$ ).

Il confronto tra i valori del livello trofico medio calcolati per i singoli gruppi è avvenuto mediante il t-test di Student. Questo permette, infatti, di confrontare statisticamente due popolazioni la cui varianza non è nota, avvalendosi di un valore medio e dell'errore standard ad esso associato. Il test è calcolato secondo la formula:

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{S_{\bar{X}}}$$

In cui  $\bar{X}$  è il valore medio ed  $S_{\bar{X}}$  l'errore ad esso associato.

I pesi e le lunghezze degli esemplari analizzati ed i valori relativi agli indici utilizzati nella descrizione della dieta sono stati sottoposti a test per verificare la normalità e l'omogeneità delle varianze (Computed Chi-Square goodness-of-fit, Shapiro-Wilks, Standardized Skewness e Standardized Kurtosis).

Per normalità della distribuzione, o distribuzione Gaussiana, si intende una curva di distribuzione la cui altezza nel punto  $X_i$  è espressa dalla relazione:

$$Y = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(X_i - \mu)^2 / 2\sigma^2}$$

L'altezza della curva,  $Y$ , è riferita ad una densità normale (Zar, 1999). Inoltre, per ogni data deviazione standard,  $\sigma$ , esiste un infinito numero di curve normali possibili e dipendenti da  $\pi$ . Allo stesso modo, per ogni data media,  $\pi$ , un infinito numero di curve normali è possibile, ognuna delle quali con un diverso valore di  $\sigma$ : una curva normale, con  $\pi = 0$  e  $\sigma = 1$  è definita come curva standardizzata normale.

In seguito a tali verifiche, la nostra scelta è ricaduta su test non parametrici, particolarmente adatti all'analisi di campioni non caratterizzati da una distribuzione normale (Zar, 1999).

Il test di Kolmogorov-Smirnov (K-S) (Kolmogorov, 1933; Smirnov, 1939), anche chiamato test ad un campione, è stato prediletto per la comparazione binomiale. Quando applicabile, il test di Kolmogorov-Smirnov è molto più potente del chi-quadro, soprattutto quando il numero di osservazioni è limitato (Zar, 1999).

Il test di Kruskal-Wallis (K-W) (Kruskal and Wallis, 1952), invece, spesso conosciuto come test per l'analisi della varianza tra ranghi, è stato utilizzato per testare la differenza nelle concentrazioni degli elementi in traccia e la differenza nella composizione della dieta nel caso di comparazioni multiple. È calcolato secondo la formula:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

Dove  $n_i$  è il numero di osservazioni nel gruppo  $i$ ,  $N$  è uguale al numero totale di osservazioni in tutti i gruppi  $k$ , e  $R_i$  è la somma dei ranghi delle  $n_i$  osservazioni nel gruppo  $i$ .

I valori critici di  $H$  per piccoli campioni ( $k \leq 5$ ) sono rintracciabili in tabelle di contingenza specifiche, mentre nel caso di campioni più numerosi ( $k > 5$ ),  $H$  può essere considerato come una approssimazione di  $\chi^2$  con  $k-1$  gradi di libertà.

Successivamente all'applicazione del test di Kruskal-Wallis, nel caso in cui l'ipotesi nulla venga rifiutata, un'analisi non parametrica a posteriori può essere performata per ricercare da quale dei gruppi confrontati derivi la differenza significativa evidenziata. Nel nostro caso, dato che non disponevamo di un uguale numero di dati per ciascun gruppo, la scelta è ricaduta sul test di Dunn (Dunn, 1964; Hollander and Wolfe, 1973; Zar, 1999), di cui viene di seguito riportata la formula:

$$Q = \frac{\overline{R_B - R_A}}{SE}$$

In cui  $\bar{R}$  indica un rango medio, ed SE l'errore standard.

Questo test generalizza la procedura di aggiustamento di Bonferroni, e si basa sulla suddivisione dei dati in ranghi, le cui somme vengono poi tabulate in ordine di grandezza crescente. Le differenze tra i ranghi estremi vengono, infine, confrontate tra loro al fine di ottenere dei valori critici  $Q$  (Zar, 1999).

Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il programma Statgraphics Plus 5.1 e fogli di calcolo di Excel creati ad hoc nel caso del calcolo del test di Dunn, non supportato dal programma.

## Risultati

### *Merluccius merluccius*

L'intensità alimentare (feeding intensity) del nasello è stata valutata mediante l'indice di vacuità percentuale (VI). Il valore dell'indice di vacuità è risultato piuttosto elevato ( $VI = 40.9\%$ ), ad indicare un feeding rate basso. Lo spettro trofico di questa specie è risultato costituito da 28 taxa, riuniti in 11 categorie superiori ed in 10 gruppi funzionali. Su un totale di 217 stomaci contenenti cibo sono state classificate 1353 prede individuali con un peso complessivo di poco più di 134 g.

I Crostacei Eufausiacei rappresentano il taxon preferenziale ed anche più abbondante ( $\%Cn > 80\%$ ), seguiti da tutte le altre categorie di prede, caratterizzate da abbondanze piuttosto limitate e, pertanto, considerate prede occasionali (Fig. 6).

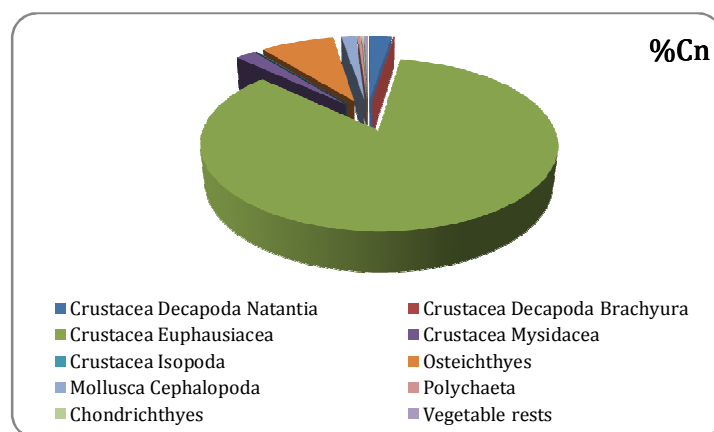


Fig. 6: Composizione della dieta di *Merluccius merluccius* (%Cn)

L'indice di importanza relativa conferma l'importanza degli Eufausiacei ( $\%I.R.I. = 59\%$ ), che rappresentano le uniche prede preferenziali della dieta del nasello, mentre i Teleostei vengono predati solo secondariamente ( $\%I.R.I. = 39\%$ ) (Fig. 7). Tutte le altre categorie di prede sono caratterizzate da percentuali inferiori all'1%, di conseguenza, si ritiene vengano ingerite occasionalmente (Tab. 5).



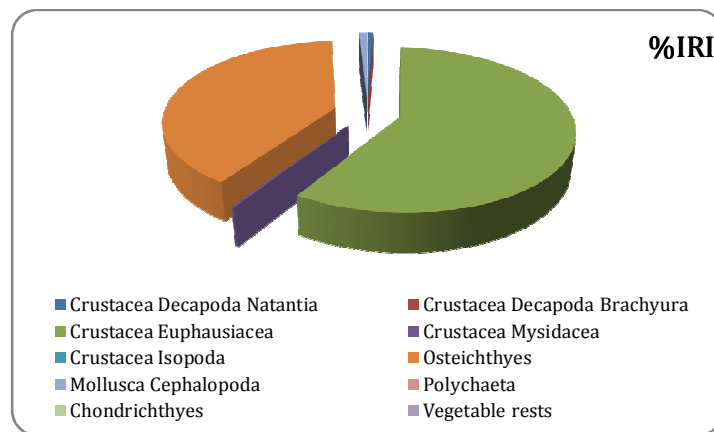


Fig. 7: Composizione della dieta di *Merluccius merluccius* (%I.R.I.)

Tab. 5: Composizione della dieta di *Merluccius merluccius* e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	4,435	13,514	10,027	3,554	195,4
Crustacea Decapoda Natantia	2,291	8,494	0,946	0,500	27,5
Crustacea Decapoda Brachyura	0,074	0,386	0,006	0,001	0,031
Crustacea Euphausiacea	80,783	28,958	28,140	57,355	3154
Crustacea Mysidacea	2,069	5,405	0,482	0,251	13,79
Crustacea Isopoda	0,074	0,386	0,001	0,001	0,029
Osteichthyes	7,834	32,046	56,606	37,551	2065
Mollusca Cephalopoda	1,552	8,108	3,677	0,771	42,4
Polychaeta	0,370	0,772	0,000	0,005	0,285
Chondrichthyes	0,148	0,772	0,073	0,003	0,17
Vegetable rests	0,370	1,158	0,043	0,009	0,478

I valori dell'indice di Shannon-Wiener suggeriscono una bassa diversità trofica, sia in termini di abbondanza ( $H'=0.80$ ), sia in relazione all'indice di importanza relativa IRI% ( $H'=0.89$ ). L'indice di Eveness rimarca i risultati ottenuti finora: la dieta appare costituita da poche categorie di prede che però risultano essere numericamente abbondanti. Anche l'indice di Levin ( $Bi= 0,04$ ) conferma la specializzazione della dieta del nasello, che predilige nutrirsi di un numero limitato di categorie di prede.

L'indice trofico, calcolato secondo la formula suggerita da Pauly et al. (2000), è pari a  $3.70 \pm 0.59$ ; questo valore permette di collocare la specie a cavallo tra il gruppo degli onnivori con preferenza per gli animali ed il gruppo dei carnivori, secondo la classificazione fornita da Stergiou and Karpouzi (2002).

### Variazione della dieta nei due sessi.

Lo studio della variazione della dieta nei due sessi è stato condotto su un campione di 96 e 91 stomaci appartenenti ad individui di sesso femminile e maschile rispettivamente. Ambo i sessi sono caratterizzati da valori di indici di vacuità piuttosto elevati e simili tra loro (VI femmine = 41.5%; VI maschi = 40.9%). La dieta in entrambi i sessi è numericamente dominata da Crostacei Eufausiacei, con indici di abbondanza prossimi all'80% (Fig. 8). Le altre categorie di prede presentano valori di abbondanza abbastanza limitati e simili, ad eccezione dei Teleostei. Questi ultimi vengono classificati come prede secondarie nel campione femminile (%Cn = 12%), mentre risultano prede occasionali per gli individui di sesso maschile (%Cn = 8%). Inoltre, nel campione di sesso maschile è maggiore l'importanza numerica dei Misidacei (%Cn = 4%) rispetto al campione maschile dove questi rappresentano meno dell'1% della dieta (Fig. 8).

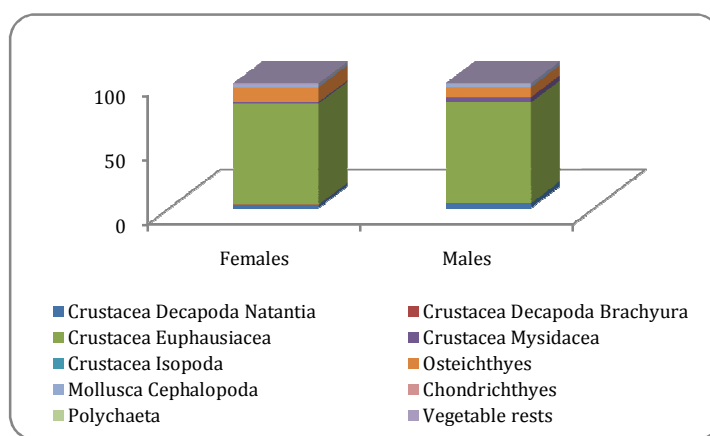


Fig. 8: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* nei due sessi (%Cn)

L'analisi dell'indice di importanza relativa percentuale pone in luce alcune lievi differenze tra i due sessi. Gli Eufausiacei sono la categoria dominante nella dieta dei maschi (%I.R.I. = 62%), seguiti dai Teleostei, considerati prede secondarie (%I.R.I. = 32%), e dalle restanti categorie di prede (Fig. 9). Nel campione femminile, invece, predominano i Teleostei (%I.R.I. = 59%), seguiti dai Crostacei Eufausiacei (%I.R.I. = 38%) (Fig. 9). Tutte le altre categorie di prede, eccetto i Crostacei Decapodi per ambo i sessi ed i Molluschi Cefalopodi per il campione maschile, presentano percentuali di I.R.I. inferiori a 1% (Tab. 6).

I valori dell'indice di diversità trofica della dieta sono risultati bassi e simili tra loro in entrambi i sessi ( $H'$  femmine = 0.82;  $H'$  maschi = 0.91). I valori dell'indice di equitabilità indicano per gli individui di sesso maschile una dieta lievemente meno specializzata rispetto a quella del campione femminile ( $J$  femmine=0.34 e  $J$  maschi=0.44).

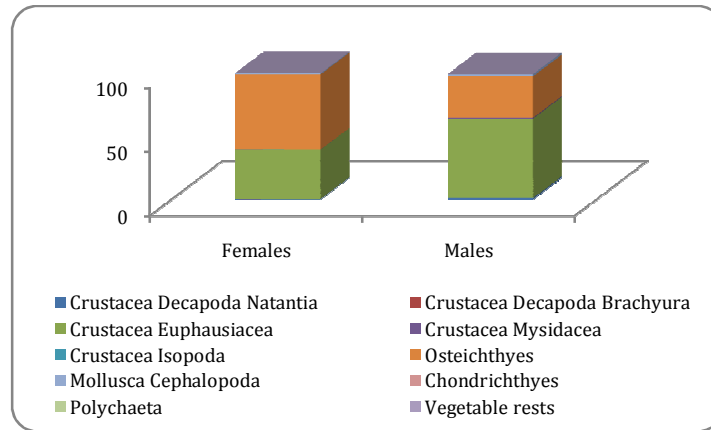


Fig. 9: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* nei due sessi (%I.R.I.).

L'analisi della ampiezza trofica rileva valori bassi per ambo i sessi, e solo lievemente maggiori nel campione maschile (Bi femmine = 0.05 e Bi maschi = 0.08). La similarità tra le diete, calcolata attraverso il test Simper (Average Dissimilarity = 15.64), l'indice di Morisita ( $C = 0.99$ ) ed il confronto statistico effettuato con il test di Kolmogorov-Smirnov ( $K-S = 0.64$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ), è risultata piuttosto elevata.

Infine, il calcolo dell'indice TROPH, permette di collocare le femmine nella categoria dei carnivori con preferenza per Decapodi, Cefalopodi e Teleostei; i maschi, al contrario, rientrano nella categoria degli onnivori con preferenza per gli animali (TROPH femmine = 3.98; TROPH maschi = 3.65). I due livelli trofici tuttavia non differiscono in maniera significativa ( $t\text{-test} = 1.668$ ,  $P\text{-value} > 0.05$ ).

Tab. 6: Composizione della dieta nei due sessi di *Merluccius merluccius* e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	Females				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,077	12,069	5,647	1,848	105,249
Crustacea Decapoda Natantia	2,308	6,897	0,773	0,373	21,248
Crustacea Decapoda Brachyura	0,192	0,862	0,0129	0,003	0,177
Crustacea Euphausiacea	78,846	21,551	22,281	38,259	2179,457
Crustacea Mysidacea	0,962	4,310	0,181	0,086	4,927
Crustacea Isopoda	0,192	0,862	0,001	0,003	0,167
Osteichthyes	11,539	42,241	67,631	58,706	3344,231
Mollusca Cephalopoda	1,731	7,759	3,326	0,689	39,234
Polychaeta	0,192	0,862	5,26E-05	0,003	0,166
Chondrichthyes	0,192	0,862	0,079	0,004	0,232
Vegetable rests	0,769	1,724	0,073	0,025	1,451

Preys	Males				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,061	13,333	6,913	2,549	132,992
Crustacea Decapoda Natantia	3,673	10,476	1,516	1,042	54,362
Crustacea Euphausiacea	78,367	30,476	27,266	61,713	3219,295
Crustacea Mysidacea	4,082	6,667	0,949	0,643	33,535
Osteichthyes	7,959	25,714	57,438	32,237	1681,651
Mollusca Cephalopoda	2,449	11,429	5,794	1,806	94,211
Chondrichthyes	0,204	0,952	0,100	0,006	0,290
Vegetable rests	0,204	0,952	0,0237	0,004	0,217

## Variazioni ontogenetiche della dieta.

Al fine di valutare le eventuali variazioni della dieta legate all'accrescimento, il nostro campione è stato suddiviso in tre sub campioni, definiti in base alle dimensioni degli esemplari (TL, in cm), denominati Small (S,  $LT < 15.0$  cm), Medium (M,  $15.0 \leq LT \leq 30.0$  cm) e Big (B,  $LT > 30.0$  cm).

La percentuale di stomaci vuoti non segue un trend lineare all'accrescersi delle dimensioni corporee dell'animale, ma anzi risulta piuttosto irregolare: la massima percentuale di stomaci vuoti si osserva negli individui Medium (VI=47%), mentre individui Small e Big presentano valori di VI leggermente inferiori (VI=32% e VI=29% rispettivamente).

Gli Eufausiacei sono numericamente dominanti nella dieta dei primi due gruppi di taglia, ed in particolar modo negli individui della classe Small in cui costituiscono quasi la totalità della dieta (%Cn = 98%). L'importanza degli Eufausiacei, però, decresce all'aumentare della taglia ed è parallelamente accompagnata dall'incremento del consumo di Teleostei e di Decapodi Natanti, massimo nella classe di taglia maggiore (%Cn = 37%) (Fig. 10). Tutte le altre categorie di prede vengono predate solo occasionalmente, come confermato dal valore dell'indice di abbondanza percentuale, sempre inferiore al 10% (Tab. 7).

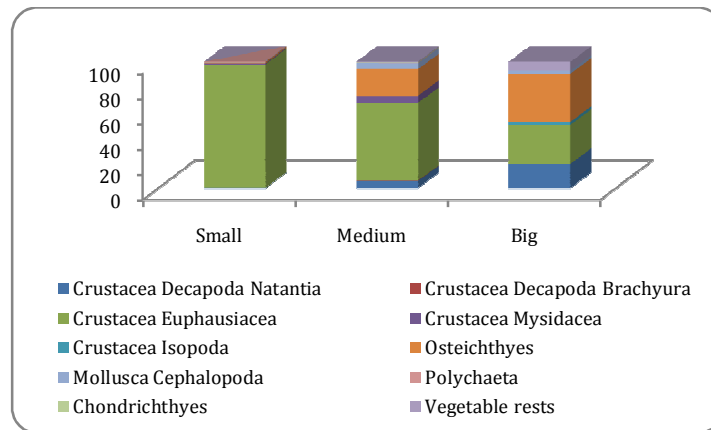


Fig. 10: Variazione ontogenetica della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* (%Cn)

Lo stesso andamento osservato per l'indice %Cn, viene seguito dall'indice di importanza relativa percentuale: gli Eufausiacei sono le prede dominanti e primarie per gli individui giovanili (%I.R.I. = 98%), mentre i Teleostei rappresentano la categoria di prede primaria negli esemplari appartenenti alle classi di taglia Medium e Big (%I.R.I. > 90%) (Fig. 11, Tab. 7). Le restanti categorie di prede presentano percentuali piuttosto variabili nelle diverse classi di taglia, rimanendo comunque al di sotto del 5% del totale (Tab. 7).

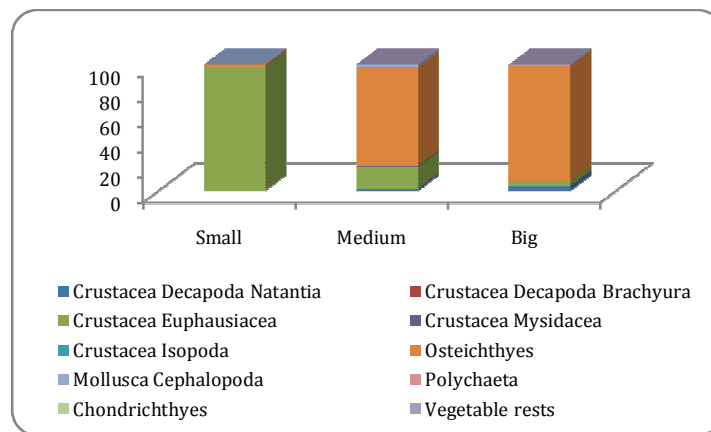


Fig. 11: Variazione ontogenetica della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* (%I.R.I.)

La cluster analysis, condotta sulla base dei valori di %I.R.I., individua due gruppi con similarità di Bray-Curtis pari al 38%: il gruppo degli individui Small e quello costituito dall'insieme degli individui Medium e Big (Fig. 12), caratterizzato da una elevata similarità (Simper test, Av. Similarity = 76.10%).

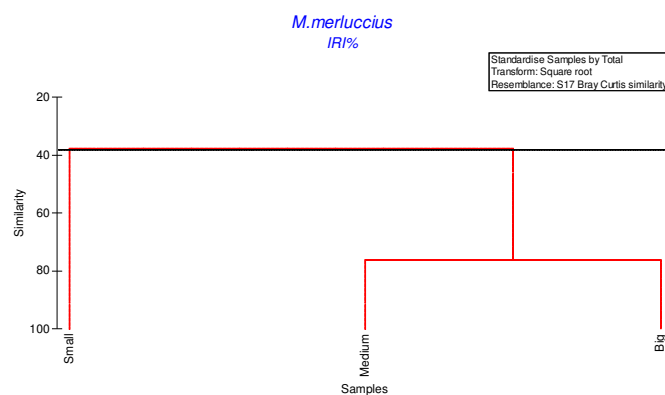


Fig. 12: Dendrogramma per classi di taglia nella dieta di *Merluccius merluccius* (%I.R.I.)

La dissimilarità media tra i due gruppi è pari al 62%, ed è dovuta principalmente al contributo di Eufausiacei e Teleostei. Statisticamente, tuttavia, non emergono differenze significative tra le classi di taglia (K-W = 1.10; P-value > 0.05).

La diversità trofica massima ( $H' = 0.78$ ) caratterizza la dieta degli individui Medium. Valori intermedi sono propri degli individui Big ( $H' = 0.40$ ), mentre il valore minimo dell'indice di Shannon-Wiener è associato alla dieta degli individui Small ( $H' = 0.25$ ).

Tab. 7: Composizione della dieta in relazione alla taglia negli esemplari di *Merluccius merluccius* e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza

percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Small					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	4,176	19,718	22,354	3,863	523,142
Crustacea Decapoda Natantia	0,232	2,817	0,227	0,010	1,292
Crustacea Euphausiacea	97,563	74,648	80,456	98,127	13288,810
Crustacea Mysidacea	0,696	8,450	0,383	0,067	9,122
Osteichthyes	1,044	12,676	17,859	1,769	239,616
Mollusca Cephalopoda	0,232	2,817	1,301	0,032	4,319
Polychaeta	0,464	1,408	0,0003	0,005	0,654
Medium					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	5,596	12,179	6,621	2,764	148,794
Crustacea Decapoda Natantia	5,109	10,897	1,104	1,258	67,716
Crustacea Decapoda Brachyura	0,243	0,641	0,011	0,003	0,163
Crustacea Euphausiacea	58,151	13,462	10,599	17,189	925,482
Crustacea Mysidiacea	5,358	5,128	0,652	0,572	30,792
Osteichthyes	19,951	42,949	75,430	76,083	4096,492
Mollusca Cephalopoda	4,380	11,538	5,429	2,102	113,172
Polychaeta	0,243	0,641	4,29E-05	0,003	0,156
Chondrichthyes	0,487	1,282	0,125	0,015	0,785
Vegetable rests	0,487	1,282	0,030	0,012	0,662
Big					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	2,326	6,667	1,761	0,368	27,241
Crustacea Decapoda Natantia	18,605	13,333	2,573	3,810	282,372
Crustacea Euphausiacea	30,233	6,667	3,526	3,037	225,058
Crustacea Isopoda	2,326	6,667	0,007	0,210	15,548
Osteichthyes	37,209	53,333	90,017	91,549	6785,411
Mollusca Cephalopoda	2,326	6,667	1,845	0,375	27,801
Vegetable rests	6,977	6,667	0,272	0,652	48,323

I valori dell'indice di equitabilità seguono lo stesso andamento osservato per l'indice di Shannon-Wiener: la maggiore specializzazione nella dieta si riscontra, infatti, per gli individui Small ( $J = 0.13$ ), che in relazione alle ridotte dimensioni corporee presentano una limitata capacità di predazione rispetto agli individui Medium e Big ( $J = 0.34$  e  $J = 0.20$  rispettivamente). L'ampiezza massima della dieta è caratteristica degli individui di taglia Big ( $B_i = 0.51$ ), seguiti dagli individui Medium ( $B_i = 0.16$ ) ed, infine, dagli individui Small che presentano una ampiezza dello spettro trofico ristretta ( $B_i = 0.01$ ).

La sovrapposizione tra le nicchie è piuttosto ampia e biologicamente significativa tra gli individui Small e Medium ( $C = 0.87$ ) e tra gli individui Medium e Big ( $C = 0.79$ ), mentre è minore tra le classi di taglia estreme ( $C = 0.50$ ).

Dall'analisi dell'indice TROPH emerge un incremento graduale del livello trofico della specie all'aumentare delle dimensioni corporee (TROPH-S = 3.23; TROPH-M = 4.22; TROPH-B = 4.32).

Tali differenze vengono statisticamente confermate nel caso di individui Small e Big (t-test = 7.616; P-value <0.05) e Small e Medium (t-test = 10.343; P-value <0.05), ma non dal confronto tra individui Big e Medium (t-test = 0.473; P-value >0.05).

Variazione della dieta in funzione dello stadio maturativo.

Tra i fattori che possono influenzare la dieta, il processo riproduttivo riveste un ruolo importante, in quanto può modificare, in maniera anche piuttosto rilevante, le abitudini alimentari di una specie.

A tal proposito la dieta di *Merluccius merluccius* è stata analizzata anche in relazione allo stadio di maturità gonadica dell'individuo. Così come avvenuto per lo studio della dieta in relazione alla taglia dell'individuo, anche in questa analisi gli esemplari sono stati ripartiti all'interno di tre sottogruppi denominati: Immature (I), Mature (M) e Spent (S).

Il valore massimo dell'indice di vacuità ( $VI > 50\%$ ) si riscontra negli individui maturi; individui immaturi ed in post-deposizione presentano valori di VI relativamente più contenuti ( $VI-I = 38\%$  e  $VI-S = 27\%$ ).

Analogamente a quanto osservato precedentemente per le classi di taglia, le differenze maggiori tra la dieta dei gruppi analizzati sono imputabili a variazioni dell'abbondanza e dell'importanza di Eufausiacei e Teleostei che, ancora una volta, rappresentano le categorie di prede più rappresentate della dieta (Fig. 13, 14 e Tab. 8).

L'indice di abbondanza percentuale raggiunge valori massimi per la categoria degli Eufausiacei nella dieta degli individui immaturi (%Cn = 88%). Negli individui maturi, invece, la dieta è quasi equamente ripartita tra Eufausiacei e Teleostei (%Cn = 33% e %Cn = 34%, rispettivamente); ma anche dai Misidacei che acquisiscono un certo peso nella dieta, come dimostrato dal valore del %Cn (circa 11%). Gli individui in fase di post-deposizione, infine, sono caratterizzati da una dieta dominata da Teleostei e Decapodi Natanti (%Cn = 59% e %Cn = 16%) (Fig. 13).



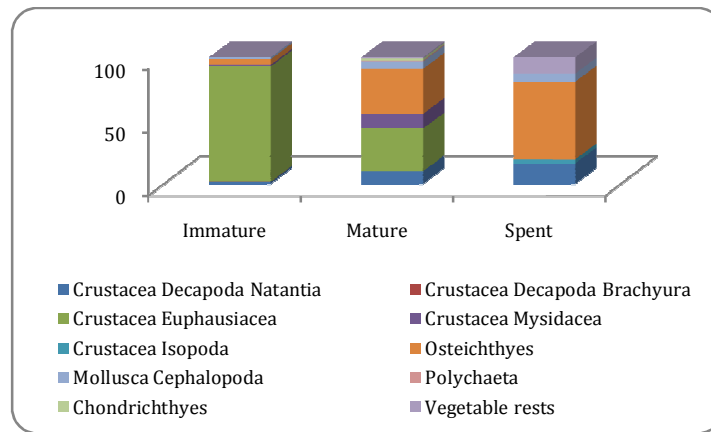


Fig. 13: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* in funzione dello stadi di maturità (%Cn)

L'esame dell'andamento dell'indice di importanza relativa fornisce un quadro simile a quello appena descritto per l'abbondanza, ma con qualche variazione legata al maggior peso di alcune categorie di prede (Tab. 8). Nello specifico, la dieta degli individui immaturi non subisce nessuna variazione sostanziale: Eufausiacei e Teleostei rappresentano la categoria di prede primarie e secondarie rispettivamente, seguiti da tutte le restanti categorie, considerate occasionali (Fig. 14). Negli individui maturi e in post-deposizione, invece, i Teleostei acquisiscono maggiore importanza rappresentando quasi totalmente la dieta di ambo i gruppi (%I.R.I-M = 91 % e %I.R.I-S = 94 %). Tutte le altre categorie di prede appaiono solo marginalmente e sono caratterizzate da valori dell'%I.R.I. molto bassi (Fig. ,14 Tab. 8).

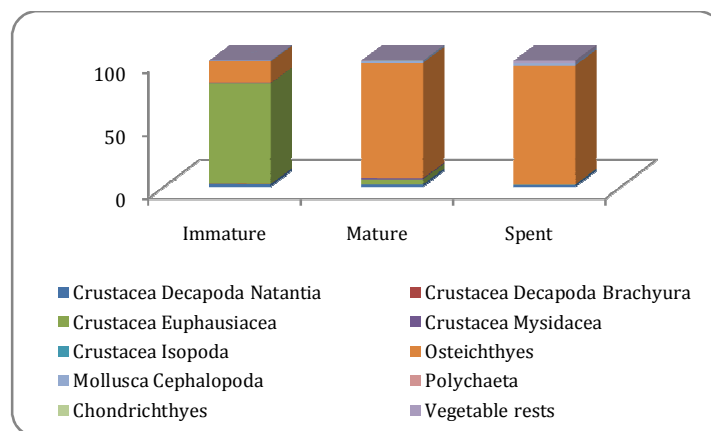


Fig. 14: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* in funzione dello stadi di maturità (%I.R.I.).

Tab. 8: Composizione della dieta negli individui immaturi, maturi e spenti di *Merluccius merluccius* e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	Immature				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	2,938	15,714	8,030	2,878	172,349
Crustacea Decapoda Natantia	1,528	7,857	13,343	1,951	116,844
Crustacea Decapoda Brachyura	0,118	0,714	0,018	0,002	0,092
Crustacea Euphausiacea	88,484	37,143	37,262	78,000	4670,574
Osteichthyes	4,230	23,571	36,951	16,211	970,702
Mollusca Cephalopoda	1,410	8,571	4,038	0,780	46,701
Preys	Mature				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,968	6,061	3,121	0,616	42,968
Crustacea Decapoda Natantia	9,524	12,122	1,369	1,891	132,030
Crustacea Euphausiacea	32,540	7,576	3,943	3,959	276,387
Crustacea Mysidacea	11,111	4,545	0,899	0,782	54,593
Osteichthyes	34,127	53,030	85,784	91,096	6358,933
Mollusca Cephalopoda	5,556	10,606	4,579	1,540	107,486
Polychaeta	0,794	1,515	9,31E-05	0,017	1,203
Chondrichthyes	1,587	3,030	0,272	0,081	5,634
Vegetable rests	0,794	1,515	0,032	0,0180	1,251
Preys	Spent				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,125	7,143	1,538	0,409	33,305
Crustacea Decapoda Natantia	15,625	7,143	1,405	1,496	121,640
Crustacea Isopoda	3,125	7,143	0,158	0,288	23,452
Osteichthyes	59,375	50,000	93,361	93,892	7636,795
Mollusca Cephalopoda	6,250	14,286	3,222	1,664	135,316
Vegetable rests	12,500	14,286	0,316	2,251	183,093

L'analisi gerarchica individua inizialmente due gruppi caratterizzati da una similarità di Bray-Curtis pari al 50% circa: uno è rappresentato dagli individui immaturi mentre l'altro è costituito dall'accorpamento di individui maturi ed in fase post riproduttiva (Fig. 15).

I livelli di similarità all'interno del gruppo individui maturi-spenti, pari al 56%, sono imputabili principalmente ad Eufausiacei e Teleostei. La distanza tra gli individui immaturi ed i restanti esemplari è quantificata in una dissimilarità del 38% circa; nessuna differenza significativa viene evidenziata dal test non parametrico di Kruskal-Wallis ( $K-W = 0.52$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ).

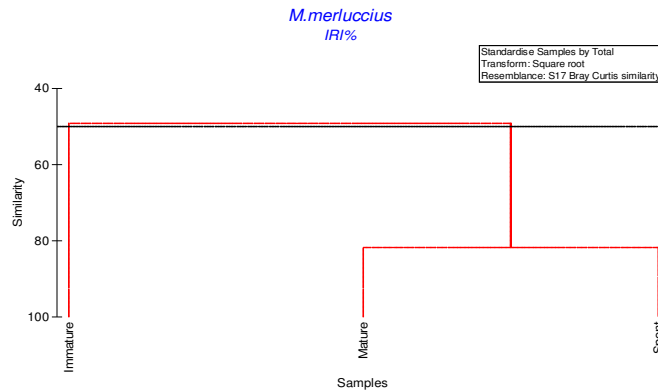


Fig. 15: Dendrogramma per stadi di maturità nella dieta di *Merluccius merluccius* (%I.R.I.)

La diversità trofica è sempre abbastanza limitata, con valori minimi per gli individui spenti e maturi ( $H'-S = 0.31$  e  $H'-M = 0.43$ ), che sono caratterizzati, inoltre, da una maggiore specializzazione della dieta ( $J = 0.20$  e  $J = 0.18$ , rispettivamente). Negli individui immaturi è evidente una moderata tendenza verso una dieta più generalista ( $J = 0.37$ ), in cui la diversità trofica è lievemente maggiore rispetto a quanto osservato per individui maturi e spenti ( $H'-I = 0.72$ ).

L'indice di Levin pone in luce che l'ampiezza della dieta maggiore è tipica degli individui maturi ed immaturi, mentre gli individui immaturi presentano il valore minimo ( $B_i = 0.04$ ). Conseguentemente, la maggiore sovrapposizione di nicchia trofica è osservabile tra gli individui maturi e spenti ( $C = 0.69$ ), mentre le sovrapposizioni tra le abitudini alimentari di individui immaturi e spenti sono trascurabili e non significative dal punto di vista biologico ( $C = 0.04$ ).

Per quanto riguarda il livello trofico, viene ulteriormente ribadita l'analogia tra la dieta degli individui in fase matura e post-riproduttiva che, infatti, sono caratterizzati da indici TROPH molto simili ( $TROPH-M = 4.41$  e  $TROPH-S = 4.42$ ).

Differenze significative scaturiscono dal confronto tra i livelli trofici degli individui immaturi e maturi ( $t\text{-test} = 4.604$ ;  $P\text{-value} < 0.05$ ), ed immaturi e spenti ( $t\text{-test} = 3.369$ ;  $P\text{-value} < 0.05$ ). Al contrario, viene confermata statisticamente l'analogia tra il livello trofico degli individui maturi e spenti ( $t\text{-test} = 0.022$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ).

Variazione della dieta in funzione dell'area di campionamento.

L'andamento dell'indice di vacuità in relazione all'area di campionamento risulta essere piuttosto discontinuo: valori massimi vengono osservati nella zona 5 (Golfo di Oristano) e nella zona 7 (Golfo di Cagliari) ( $VI = 65\%$  e  $VI = 41\%$  rispettivamente), mentre valori minimi corrispondono ai campioni provenienti dalla costa centro-orientale e dalla zona nord occidentale (zona 1 e zona 4).

I Teleostei sono presenti in tutte le aree di campionamento con abbondanze molto variabili: sono prede preferenziali nelle zone 4 e 5 (Sardegna nord-occidentale e centro-occidentale), secondarie in tutte le restanti zone ad eccezione della zona 6, in cui possono essere considerati come prede occasionali (Fig. 16).

Anche gli Eufausiacei rimangono una categoria importante in tutte le stazioni di campionamento: la massima abbondanza di questa categoria di prede si riscontra nell'area sud-orientale ( $\%Cn = 92\%$ , zona 6), seguita dalla zona 1 ( $\%Cn = 77\%$ ), in cui si accompagnano a Crostacei Decapodi Brachiuri e Molluschi Cefalopodi ( $\%Cn < 2\%$ ) (Fig. 16). Nella zona 2 (Sardegna nord-orientale) è ragguardevole anche il contributo dei Misidacei ( $\%Cn = 50$ ), che sono presenti, seppure in percentuali nettamente inferiori, anche nella dieta degli individui catturati nelle zone 4, 6 e 7 ( $\%Cn = 6\%$ ;  $\%Cn = 0.2\%$ ;  $\%Cn = 11\%$ , rispettivamente) (Fig. 16; Tab. 9). Isopodi e resti vegetali ( $\%Cn = 0.6\%$ ;  $\%Cn = 3\%$ ) vengono rinvenuti esclusivamente negli stomaci degli individui catturati nell'area del Golfo di Cagliari, mentre i Policheti sono esclusivi dell'area 6 (Fig. 16, Tab. 9).

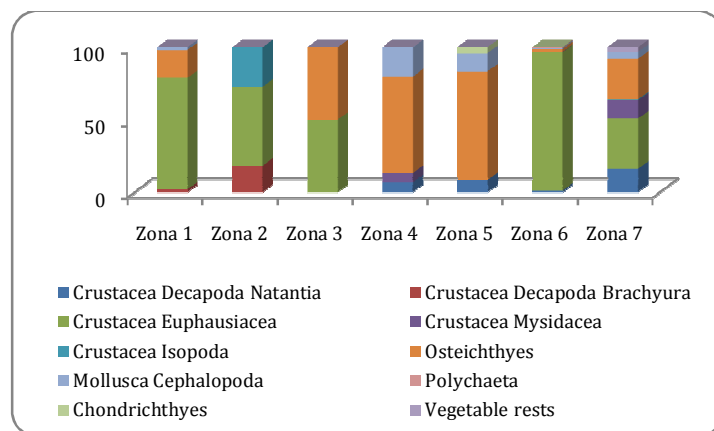


Fig. 16: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* in funzione dell'area di campionamento ( $\%Cn$ ).

I risultati ottenuti in seguito all'analisi dell'indice di importanza relativa percentuale sono simili a quelli osservati considerando le abbondanze percentuali. Viene rimarcata la preponderanza dei Teleostei, la classe più rappresentativa e ponderalmente più importante nella dieta del nasello in tutte le aree di campionamento (Tab. 9), con l'unica eccezione della zona 6, ove l' $\%I.R.I.$  relativo ai Teleostei

non raggiunge il 5% (Fig. 17, Tab 9). Le restanti categorie di prede, eccetto gli Eufausiacei nella zona 1 e 6, sono presenti con percentuali inferiori (Tab. 9).

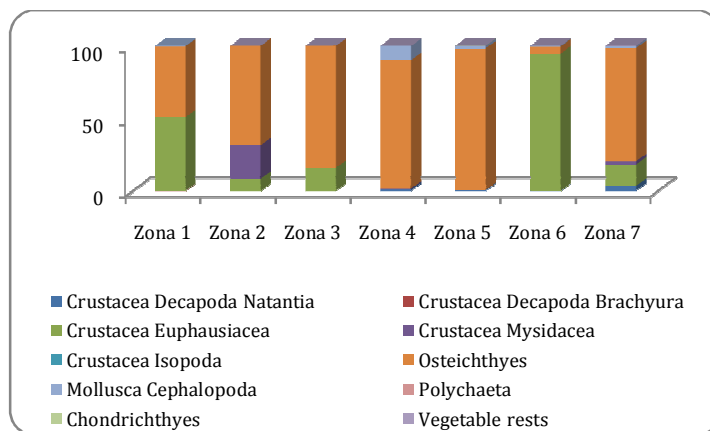


Fig. 17: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* in funzione dell'area di campionamento (%I.R.I.).

L'analisi dei cluster ha permesso di evidenziare similarità nella dieta tra le varie zone: con una similarità di Bray-Curtis pari al 49% vengono individuati 2 sottoinsiemi distinti, non sempre accomunati dal punto di vista geografico (Fig. 18). Per similarità maggiori (Bray-Curtis = 74%) vengono, invece, individuati ben 4 gruppi differenti. Il primo gruppo, costituito dagli individui catturati nella zona 1, si distacca dal secondo in cui sono raggruppati gli esemplari catturati nella zona 6, del 34% circa, grazie al contributo principale dei Teleostei ed Eufausiacei.

Un terzo gruppo è rappresentato dagli esemplari catturati nella zona 4 e 5 (Alghero-Oristano), ed è caratterizzato da una similarità molto elevata (Aver. Similarity = 85%), dovuta principalmente a Teleostei, Molluschi Cefalopodi e Crostacei Decapodi (Fig. 18).

Il quarto gruppo, infine, mostra una maggiore eterogeneità riunendo gli individui della zona 2 e 3 (Sardegna nord- e nord-orientale) e del Golfo di Cagliari (zona 7). Anche questo insieme, tuttavia, è caratterizzato da una elevatissima similarità (Aver. Similarity = 75.00%), dovuta alla presenza di Teleostei, Molluschi Cefalopodi e Crostacei Decapodi.

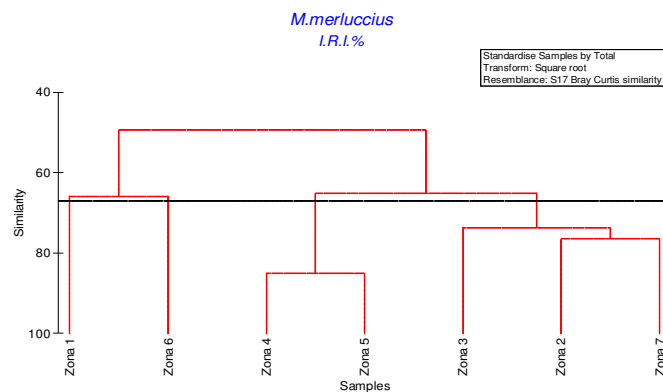


Fig. 18: Dendrogramma per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione all'area di campionamento (%I.R.I.)

Tab. 9: Composizione della dieta negli individui di *Merluccius merluccius* catturati nella varie stazioni di campionamento con relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Zona 1					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda Brachyura	1,923	5,263	0,093	0,122	10,612
Crustacea Euphausiacea	76,923	47,368	15,720	50,644	4388,342
Osteichthyes	19,231	42,105	81,515	48,954	4241,907
Mollusca Cephalopoda	1,923	5,263	2,673	0,279	24,188
Zona 2					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	8,333	12,500	8,686	3,465	212,745
Crustacea Euphausiacea	16,667	25,000	2,676	7,875	483,579
Crustacea Mysidacea	50,000	25,000	5,363	22,540	1384,084
Osteichthyes	25,000	37,500	83,274	66,121	4060,269
Zona 3					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	33,333	40,000	22,990	31,022	2252,945
Crustacea Euphausiacea	33,333	20,000	3,542	10,155	737,506
Osteichthyes	33,333	40,000	73,468	58,823	4272,043
Zona 4					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	11,765	16,667	5,350	4,044	285,241
Crustacea Decapoda Natantia	5,882	8,333	0,489	0,753	53,092
Crustacea Mysidacea	5,882	8,333	0,275	0,727	51,314
Osteichthyes	58,824	41,667	85,479	85,241	6012,590
Mollusca Cephalopoda	17,647	25,000	8,408	9,235	651,367
Zona 5					
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	11,111	11,111	4,670	1,617	175,340

Crustacea Decapoda Natantia	7,407	7,407	0,569	0,545	59,083
Zona 5					
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Osteichthyes	66,667	66,667	89,531	96,059	10413,148
Mollusca Cephalopoda	11,111	11,111	4,892	1,640	177,816
Chondrichthyes	3,704	3,704	0,339	0,138	14,973
Zona 6					
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,420	14,943	13,823	3,129	257,655
Crustacea Decapoda Natantia	1,109	6,897	0,819	0,161	13,298
Crustacea Euphausiacea	92,144	50,575	57,387	91,832	7562,491
Crustacea Mysidacea	0,185	2,299	0,077	0,007	0,602
Osteichthyes	1,941	13,793	25,072	4,524	372,590
Mollusca Cephalopoda	0,647	8,046	2,740	0,331	27,252
Polychaeta	0,462	2,299	0,000	0,013	1,063
Chondrichthyes	0,092	1,149	0,081	0,002	0,200
Zona 7					
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	10,180	17,172	9,817	6,890	343,384
Crustacea Decapoda Natantia	14,371	9,091	2,532	3,084	153,668
Crustacea Euphausiacea	31,138	19,192	4,627	13,773	686,384
Crustacea Mysidacea	11,377	8,081	1,129	2,028	101,062
Crustacea Isopoda	0,599	1,010	0,002	0,012	0,607
Osteichthyes	25,150	35,354	77,509	72,826	3629,334
Mollusca Cephalopoda	4,192	7,071	4,235	1,196	59,585
Vegetable rests	2,994	3,030	0,149	0,191	9,523

Le differenze maggiori emergono dal confronto tra le zone 1-6 ed il gruppo costituito dalle zone 2, 3 e 7, come anche ben evidente dalla rappresentazione mediante MDS, in cui la maggiore distanza osservata tra i suddetti gruppi è indicativa di una maggiore differenziazione tra questi (Fig. 19).

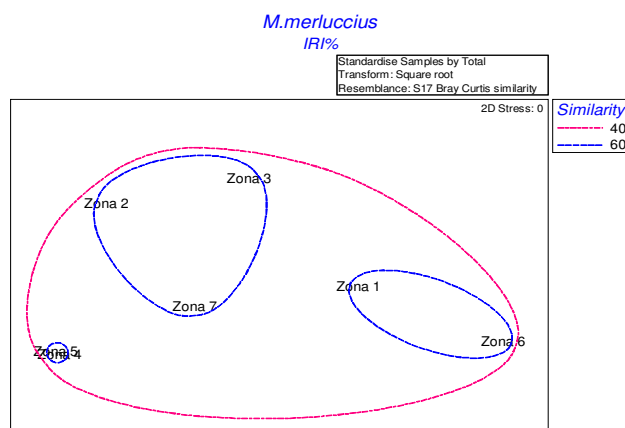


Fig. 19: Rappresentazione MDS per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione all'area di campionamento (%I.R.I.)

Ciononostante, non si registrano differenze significative utilizzando il test di Kruskal-Wallis (K-W = 4.00, P-value > 0.05).

La diversità trofica, misurata mediante l'indice di Shannon-Wiener, non permette di tracciare un trend preciso in relazione all'area di campionamento. Tutti i valori di  $H'$ , tuttavia, indicano una limitata ricchezza di taxa nella dieta della specie in tutte le stazioni di campionamento ( $H' \text{ max} = 0.94$ ). Analogamente all'indice di Shannon-Wiener, l'indice di equitabilità delinea un quadro piuttosto variabile in cui la ripartizione massima delle risorse si osserva nelle coste centro-orientali e nord-orientali ( $J = 0.83$  e  $J = 0.67$ , rispettivamente), mentre la dieta appare maggiormente specializzata nel resto delle stazioni di campionamento. L'ampiezza della dieta è minima nei campioni provenienti dalle coste ogliastrene (zona 1) e dal versante occidentale della Sardegna (zona 4, 5 e 6) (Tab. 10). Al contrario, valori dell'indice di Levin più consistenti sono propri del Golfo di Cagliari (zona 7) e della Sardegna nord e nord orientale (zona 2, 3) (Tab. 10). La sovrapposizione tra le diete è significativa dal punto di vista biologico in buona parte dei confronti, valori più bassi sono stati registrati tra le zone 4-6, 5-6, 2-6 e 1-4 (Tab. 10).

Tab. 10: Valori dell'indice di Morisita (C) e dell'indice di Levin (Bi) per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione all'area di campionamento (In rosso i valori biologicamente significativi).

	Morisita's Index							Levin Index
	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4	Zona 5	Zona 6	Zona 7	
Zona 1	-	0,37	0,85	0,24	0,24	0,96	0,74	0,20
Zona 2	-	-	0,50	0,49	0,41	0,27	0,64	0,73
Zona 3	-	-	-	0,67	0,69	0,69	0,84	1,00
Zona 4	-	-	-	-	0,98	0,02	0,58	0,34
Zona 5	-	-	-	-	-	0,02	0,55	0,23
Zona 6	-	-	-	-	-	-	0,59	0,02
Zona 7	-	-	-	-	-	-	-	0,52

L'indice TROPH per la valutazione del livello trofico nelle varie zone di campionamento presenta un andamento molto variabile (Tab. 11).

Tab. 11: Valori del livello trofico medio (TROPH) ed errore standard (s.e.) per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione all'area di campionamento e relativi confronti statistici (in rosso i valori significativi di *t*-test).

	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4	Zona 5	Zona 6	Zona 7	TROPH	s.e.
Zona 1		0,803	0,563	2,259	2,854	4,725	1,852	3,840	0,630
Zona 2			0,021	1,011	1,223	4,521	0,379	4,070	0,699
Zona 3				0,770	0,869	3,136	0,277	4,058	0,652
Zona 4					0,134	7,368	1,045	4,443	0,766
Zona 5						9,607	1,715	4,476	0,798
Zona 6							9,304	3,273	0,418



### Variazione della dieta in funzione della profondità di campionamento.

Infine, la dieta è stata esaminata anche in funzione della profondità. L'analisi è stata condotta con due differenti approcci: nel primo sono state considerati gli strati batimetrici utilizzati durante le campagne di pesca sperimentale (10-50 m; 50-100 m; 100-200 m; 200-500 m; 500-800 m); nel secondo caso, invece, gli strati batimetrici sono stati accorpati a costituire due macrostrati corrispondenti alle profondità limite della piattaforma e della scarpata continentale (10-200 e 200-800 m rispettivamente).

I valori dell'indice di vacuità decrescono all'aumentare della profondità, il maggior numero di stomaci vuoti si osserva nello strato batimetrico compreso tra 50 e 100 metri ( $VI = 66\%$ ), oltre i 200 metri il valore medio di  $VI$  si attesta intorno al 33%. Considerando i macrostrati, la percentuale di stomaci vuoti è maggiore per il campione relativo alla piattaforma ( $VI = 46\%$ ), mentre valori leggermente inferiori ( $VI = 36\%$ ) caratterizzano il campione della scarpata.

In termini di abbondanza, gli strati più superficiali sono caratterizzati da una prevalenza dei Teleostei, prede primarie con valori di  $\%Cn$  pari a 58% e 64% rispettivamente (Fig. 21). Entro i 50 metri di profondità i Molluschi Cefalopodi vengono considerati prede secondarie ( $\%Cn = 25\%$ ), mentre all'aumentare della profondità la loro abbondanza decresce a favore dei Crostacei Misdacei ( $\%Cn = 13\%$ ) e di prede occasionali quali Selaci e Crostacei Decapodi Natanti (Fig. 20). A partire dalla batimetrica dei 100 metri e fino ai limiti della piattaforma diventa preponderante la presenza degli Eufausiacei. La dieta degli individui catturati nella scarpata pare essere accomunata da una maggiore gamma di prede, presenti con abbondanze molto variabili: Teleostei ed Eufausiacei, comunque, costituiscono le categorie più rappresentate in entrambe le fasce batimetriche (Fig. 20).

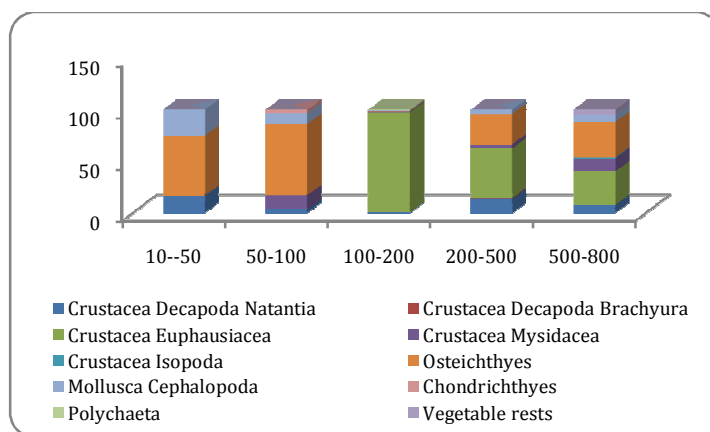


Fig. 20: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* in funzione della profondità di campionamento (%Cn).

L'analisi dell'evoluzione dell'%I.R.I. in funzione della profondità ci fornisce uno schema più semplificato di quanto delineato sulla base dell'esame dell'indice di abbondanza percentuale. I Teleostei dominano tutte gli strati batimetrici con la sola eccezione dello strato compreso tra i 100 ed i 200 metri, caratterizzato, invece, dalla presenza pressoché totalitaria degli Eufausiacei (%I.R.I. = 94%). Misidacei, Cefalopodi e Selaci rappresentano gruppi di prede secondari, con valori di %I.R.I. variabili in funzione dello strato batimetrico (Fig. 21).

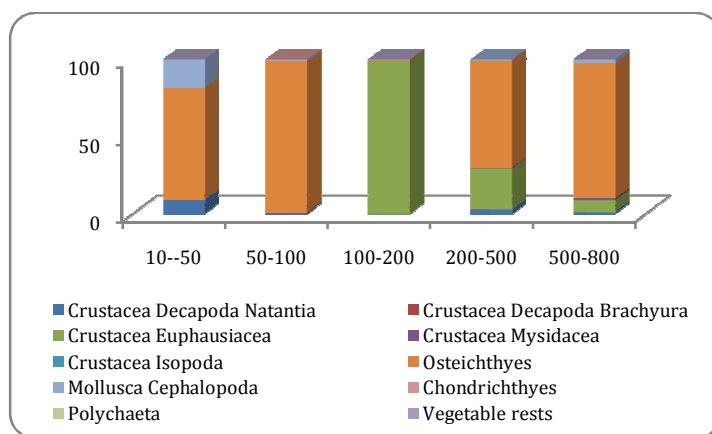


Fig. 21: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* in funzione della profondità di campionamento (%I.R.I.).

Gli Eufausiacei mostrano una elevata importanza in termini numerici per la piattaforma con percentuali attorno al 90%, valori minori (%Cn = 36%) sono tipici della zona della scarpata (Fig. 22). Mediante l'indice di importanza relativa si evidenzia una maggiore rappresentatività dei Teleostei, accompagnati da Cefalopodi e Decapodi Natanti, nella fascia batimetrica corrispondente alla scarpata (Fig. 22, Tab. 13).

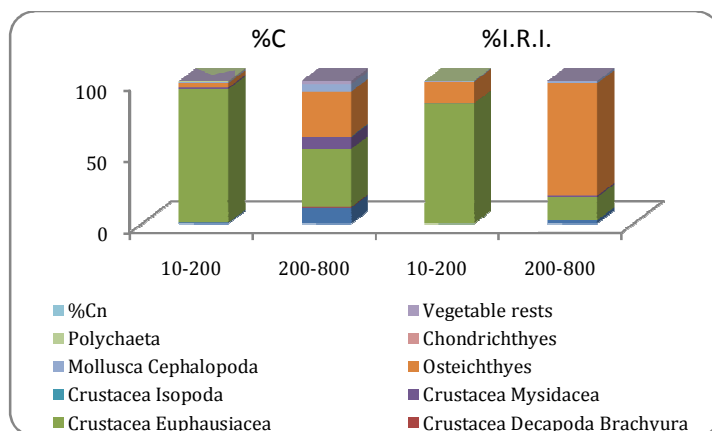


Fig. 22: Variazione della composizione della dieta di *Merluccius merluccius* per la piattaforma e la scarpata continentale (%Cn e %I.R.I.)

Tab. 12: Composizione della dieta negli individui di *Merluccius merluccius* in funzione della profondità con relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

	10-50				
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda Natantia	16,667	33,333	1,412	9,039	602,623
Osteichthyes	58,333	33,333	86,442	72,388	4825,836
Mollusca Cephalopoda	25,000	33,333	12,146	18,573	1238,208
	50-100				
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	6,452	6,897	2,863	0,579	64,236
Crustacea Decapoda Natantia	3,226	3,448	0,261	0,108	12,025
Crustacea Mysidacea	12,903	6,897	0,589	0,839	93,051
Osteichthyes	64,516	68,966	91,476	97,040	10758,100
Mollusca Cephalopoda	9,677	10,345	4,499	1,323	146,650
Chondrichthyes	3,226	3,448	0,312	0,110	12,198
	100-200				
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,558	15,663	17,081	3,412	323,263
Crustacea Decapoda Natantia	0,468	6,024	0,411	0,056	5,294
Crustacea Euphausiacea	93,633	55,422	69,252	95,274	9027,354
Crustacea Mysidacea	0,562	3,614	0,278	0,032	3,034
Osteichthyes	0,655	8,434	10,055	0,953	90,329
Mollusca Cephalopoda	0,562	7,229	2,826	0,258	24,488
Polychaeta	0,468	2,410	0,000	0,012	1,129
Chondrichthyes	0,094	1,205	0,098	0,002	0,231
	200-500				
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	8,088	14,286	7,464	4,077	222,173
Crustacea Decapoda Natantia	12,500	10,390	2,107	2,785	151,766
Crustacea Decapoda Brachyura	0,735	1,299	0,025	0,018	0,987
Crustacea Euphausiacea	44,118	27,273	6,272	25,216	1374,270
Crustacea Mysidacea	3,676	6,494	0,349	0,480	26,140
Osteichthyes	27,206	33,766	80,228	66,563	3627,634
Mollusca Cephalopoda	3,676	6,494	3,555	0,862	46,955
	500-800				
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	8,108	13,636	6,602	3,505	200,591
Crustacea Decapoda Natantia	7,207	9,091	1,072	1,315	75,267
Crustacea Euphausiacea	29,730	12,121	3,729	7,086	405,565
Crustacea Mysidacea	11,712	6,061	0,981	1,344	76,928
Crustacea Isopoda	0,901	1,515	0,003	0,024	1,369
Osteichthyes	31,532	42,424	82,044	84,188	4818,351
Mollusca Cephalopoda	6,306	10,606	5,380	2,166	123,944
Vegetable rests	4,505	4,545	0,189	0,373	21,333

Tab. 13: Composizione della dieta negli individui di *Merluccius merluccius* catturati nella piattaforma e nella scarpata continentale con relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

10-200					
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	3,617	13,158	12,710	3,142	214,828
Crustacea Decapoda Natantia	0,542	5,263	0,348	0,069	4,689
Crustacea Euphausiacea	90,416	40,351	48,955	82,260	5623,739
Crustacea Mysidacea	0,904	4,386	0,327	0,079	5,400
Osteichthyes	3,074	25,439	34,524	13,990	956,456
Mollusca Cephalopoda	0,814	7,895	2,996	0,440	30,079
Polychaeta	0,452	1,754	0,000	0,012	0,794
Chondrichthyes	0,181	1,754	0,138	0,008	0,560
200-800					
Preys	Cn%	F%	W%	IRI%	IRI
Crustacea Decapoda NI	8,065	13,793	7,047	3,797	208,436
Crustacea Decapoda Natantia	10,081	10,345	1,609	2,203	120,931
Crustacea Decapoda Brachyura	0,403	0,690	0,013	0,005	0,287
Crustacea Euphausiacea	37,500	20,000	5,049	15,500	850,971
Crustacea Mysidacea	7,661	6,207	0,689	0,944	51,829
Crustacea Isopoda	0,403	0,690	0,001	0,005	0,279
Osteichthyes	29,032	37,931	81,071	76,070	4176,335
Mollusca Cephalopoda	4,839	8,276	4,430	1,397	76,707
Vegetable rests	2,016	2,069	0,091	0,079	4,359

L'analisi della dieta in funzione della profondità, condotta mediante cluster analysis, individua ad un livello di similarità del 32% (Bray-Curtis), due gruppi costituiti dalla fascia batimetrica dei 100-200 metri e dalle restanti batimetrie rispettivamente (Fig. 23). Questo è probabilmente imputabile alla presenza massiccia di Eufausiacei che caratterizza lo strato dei 100-200 m, come già osservato precedentemente.

Tuttavia, nessuna differenza significativa viene riscontrata mediante l'applicazione del test di Kruskal-Wallis ( $K-W = 3.12$ ;  $P\text{-value} = 0.54$ ).

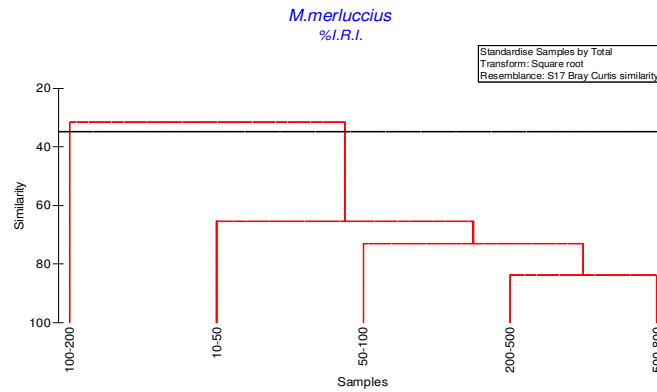


Fig. 23: Dendrogramma per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione alla profondità di campionamento (%I.R.I.)

Lo stesso scenario viene delineato mediante la rappresentazione MDS con uno stress molto basso (stress <0.02), a confermare la bontà della rappresentazione (Fig. 24). Il test Simper quantifica in circa il 70% la similitudine all'interno del gruppo più numeroso, mentre la distanza tra il gruppo dei 100-200 e l'insieme delle restanti batimetrie è pari al 68,45%.

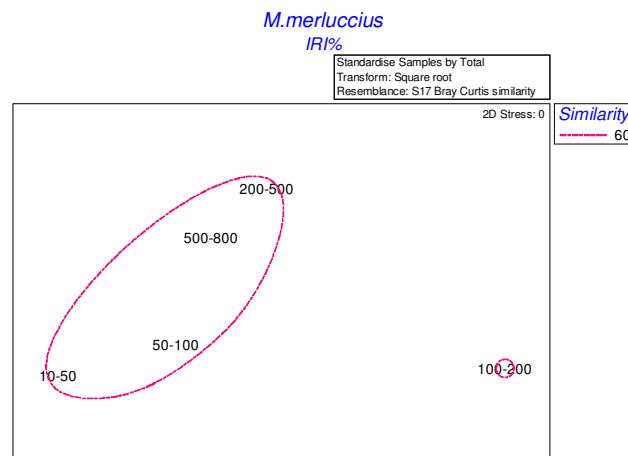


Fig. 24: Rappresentazione MDS per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione della profondità di campionamento (%I.R.I.)

La cluster analysis relativa allo studio della dieta degli individui della piattaforma e della scarpata continentale individua differenze minime tra le abitudini alimentari nei due macrostrati (Av. Dissimilarity = 39%), infatti, nessuna differenza significativa viene evidenziata in seguito all'applicazione del test di Kolmogorov-Smirnov (K-S = 0.64; P-value = 0.81).

La ricchezza specifica della dieta sembra seguire un trend crescente in relazione alla profondità: i valori maggiori sono, infatti, tipici delle batimetriche più profonde. Allo stesso modo, se si considerano

i macrostrati, è evidente un incremento della diversità trofica associato alla dieta degli individui catturati oltre i 200 metri (Tab. 14).

Tab. 14: Valori dell'indice di Shannon-Wiener (H') per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione alla profondità.

Depth	H'	Depth	H'
10-50	0,76		
50-100	0,17	10-200	0,58
100-200	0,23		
200-500	0,92	200-800	0,82
500-800	0,67		

L'indice di equitabilità, invece, presenta un andamento altalenante in tutti gli strati batimetrici, pertanto è impossibile individuare un trend definito per la ripartizione delle risorse relativamente alle variazioni di profondità. Il valore di J riferito unicamente ai macrostrati è piuttosto contenuto in ambo i casi, suggerendo quindi una marcata specializzazione della dieta, in particolar modo per gli individui catturati nella piattaforma (J-piattaforma = 0.28 e J-scarpata = 0.37).

Analogamente, l'ampiezza della dieta risulta maggiore nella fascia oltre i 200 metri (Aver. Bi = 0.44) rispetto alla zona più superficiale (Aver. Bi = 0.30) (Tab. 15). La sovrapposizione tra le diete appare comunque piuttosto consistente, con valori sempre prossimi o superiori al limite della significatività biologica, ad eccezione di pochi casi (Tab. 15).

Tab. 15: Valori dell'indice di Morisita (C) e dell'indice di Levin (Bi) per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione alla profondità di campionamento (In rosso i valori biologicamente significativi).

	Morisita's Index					Levin Index
	10-50	50-100	100-200	200-500	500-800	
10-50	-	0,92	0,01	0,53	0,68	0,66
50-100	-	-	0,01	0,52	0,70	0,24
100-200	-	-	-	0,73	0,53	0,01
200-500	-	-	-	-	0,93	0,39
500-800	-	-	-	-	-	0,49

Infine, il calcolo dell'indice TROPH per i cinque strati batimetrici suggerisce che il livello trofico massimo per la specie si osserva negli strati batimetrici più superficiali (Tab. 16); tuttavia, se si considera il valore medio (TROPH=4.03) o i valori relativi ai macrostrati (TROPH=3.40 e TROPH=4.22, rispettivamente), è possibile notare un lieve incremento del valore dell'indice, e quindi del livello trofico, in relazione all'aumento della profondità (Tab. 16). Tale incremento è stato dimostrato statisticamente mediante il *t*-test (*t* = 10.253; *P*-value <0.05).

Tab. 16: Valori del livello trofico (TROPH) ed errore standard (s.e.) per la dieta di *Merluccius merluccius* in relazione alla profondità di campionamento e relativi confronti statistici (in rosso i valori significativi del *t*-test).

	10-50	50-100	100-200	200-500	500-800	TROPH	s.e.
10-50		0,311	6,346	0,930	0,122	4,373	0,725
50-100			10,909	2,434	0,864	4,482	0,804
100-200				9,527	11,251	3,226	0,397
200-500					1,938	4,086	0,706
500-800						4,327	0,775

## *Scyliorhinus canicula*

Nei 309 stomaci di gattuccio contenenti cibo sono state identificate 54 taxa di prede, riuniti in 23 categorie superiori e 15 gruppi funzionali, per un totale di 1299 prede individuali con un peso complessivo di 621 g. La percentuale di stomaci vuoti è risultata relativamente bassa ( $VI = 12\%$ ). Nessuna delle prede caratterizzanti la dieta del gattuccio può essere considerata preferenziale: i valori dell'indice di abbondanza percentuale, infatti, sono sempre al di sotto del limite del 50%, con numerose categorie di prede caratterizzate da abbondanze percentuali comprese tra 10 e 20 punti percentuali (Fig. 25). La maggior parte delle categorie vengono predate solo occasionalmente, come dimostrato dai bassi valori di %Cn, inferiori al 10% nella maggior parte dei casi (Fig. 25).

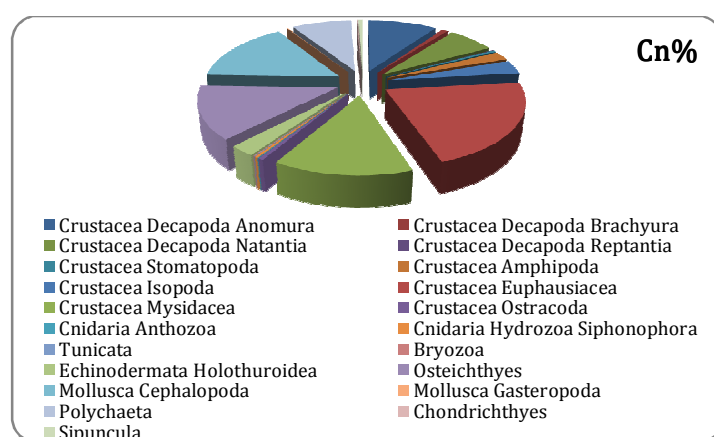


Fig. 25: Composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* (%Cn)

Dall'analisi dell'indice di importanza relativa emerge che i Molluschi Cefalopodi e Teleostei (%I.R.I. = 26% e %I.R.I. = 24%) sono le categorie più importanti nella dieta. Ciononostante, numerosi altri taxa mostrano una discreta importanza nella dieta di questa specie (Fig. 26, Tab. 17).

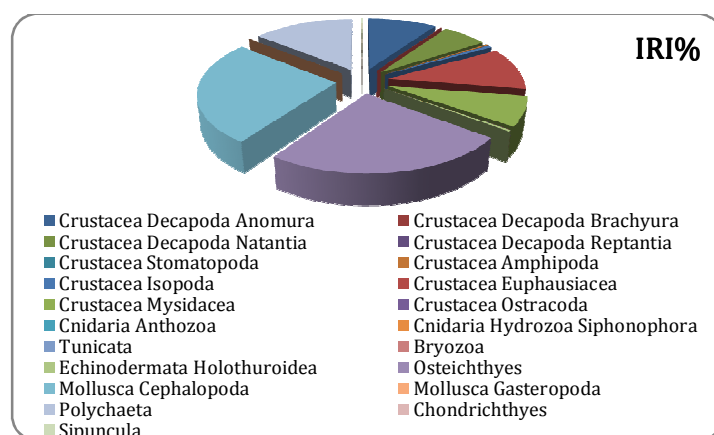


Fig. 26: Composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* (%I.R.I.)



Tab. 17: Composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,002	3,714	0,085	0,529	11,465
Crustacea Decapoda NI	2,925	4,642	0,225	0,675	14,623
Crustacea Decapoda Anomura	9,084	8,621	14,721	9,474	205,217
Crustacea Decapoda Brachyura	0,770	1,061	0,381	0,056	1,221
Crustacea Decapoda Natantia	6,236	8,223	10,330	6,289	136,217
Crustacea Decapoda Reptantia	0,077	0,133	0,012	0,001	0,012
Crustacea Stomatopoda	0,462	0,796	0,033	0,018	0,394
Crustacea Amphipoda	2,002	2,918	0,028	0,273	5,921
Crustacea Isopoda	3,233	3,183	1,034	0,627	13,581
Crustacea Euphausiacea	20,246	9,549	3,001	10,249	221,990
Crustacea Mysidacea	10,000	10,875	1,149	7,070	153,143
Crustacea Ostracoda	0,462	0,531	0,000	0,011	0,245
Cnidaria Anthozoa	0,077	0,133	0,032	0,001	0,0144
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,308	0,796	0,003	0,011	0,248
Tunicata	0,077	0,133	0,025	0,001	0,014
Bryozoa	0,077	0,133	0,002	0,000	0,010
Echinodermata Holothuroidea	2,463	1,857	1,343	0,326	7,067
Osteichthyes	12,471	15,915	20,708	24,379	528,054
Mollusca Cephalopoda	14,550	13,130	28,102	25,854	560,011
Mollusca Gasteropoda	0,077	0,133	0,230	0,002	0,041
Polychaeta	7,852	12,467	16,607	14,077	304,923
Chondrichthyes	0,154	0,265	0,617	0,009	0,204
Sipuncula	0,462	0,796	1,334	0,066	1,429

I valori dell'indice di Shannon-Wiener indicano una moderata diversità specifica ( $H' > 2.0$ ), sia in termini di abbondanza che di frequenza e peso delle prede. Il valore relativo all'indice di importanza relativa percentuale, invece, è leggermente inferiore ( $H' = 1.93$ ), ma comunque in linea con i risultati riscontrati per gli altri indici.

Anche l'indice di Evenness assume valori consistenti, soprattutto quando calcolato sulla base dei valori dell'indice di abbondanza e frequenza percentuale ( $J' = 0.76$  e  $J = 0.80$ , rispettivamente), suggerendo una moderata ripartizione tra tutte le prede all'interno della dieta.

L'ampiezza della dieta, valutata mediante l'indice di Levin, è pari a 0.46. Il valore del TROPH colloca la specie nella categoria dei carnivori ( $TROPH = 3.89 \pm 0.54$ ).

Variazione della dieta nei due sessi.

La comparazione della dieta tra sessi è stata condotta attraverso l'analisi di 155 e 152 stomaci di esemplari di sesso femminile e maschile rispettivamente. L'indice di vacuità presenta valori simili in ambo i sessi (VI-F = 11% e VI-M = 12%).

L'analisi dell'indice di abbondanza delle prede permette di evidenziare una notevole similitudine nelle abitudini alimentari di entrambi i sessi (Fig. 27). Gli Eufausiacei rappresentano la categoria più abbondante in ambo i casi, con percentuali attorno al 20%. Misidacei, Molluschi Cefalopodi e Teleostei sono prede secondarie per il campione femminile, mentre i maschi ai Teleostei preferiscono i Decapodi Anomuri (Fig. 27). Le restanti categorie di prede sono rappresentate in ambedue le diete con percentuali di abbondanza piuttosto basse, e vengono pertanto considerate come prede occasionali (Fig. 27, Tab. 18).

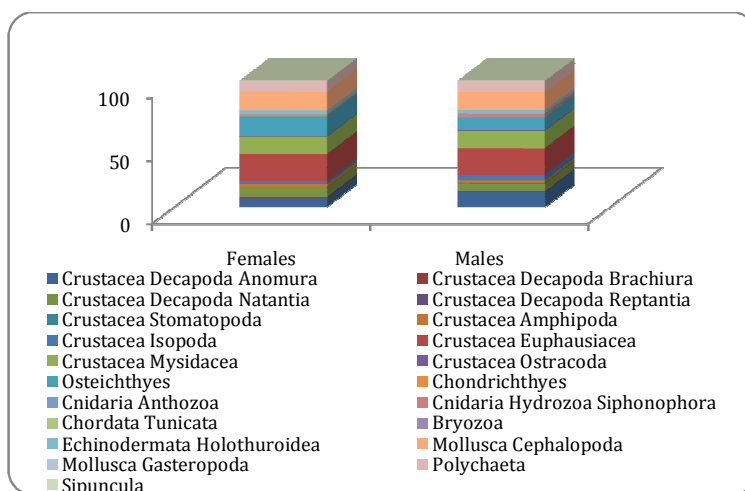


Fig. 27: Composizione della dieta nei due sessi di *Scyliorhinus canicula* (%Cn)

L'indice di importanza relativa percentuale mette in luce una maggiore importanza dei Teleostei nella dieta delle femmine; questi, accompagnati dai Cefalopodi, costituiscono oltre il 50% della dieta degli individui di questo campione.

Nel campione maschile, invece, i Molluschi Cefalopodi costituiscono il gruppo più importante, insieme a Decapodi Anomuri e ai Teleostei (Fig. 28). Nessuna delle categorie citate, tuttavia, mostra valori di %I.R.I. superiori al 20% (Tab. 18).

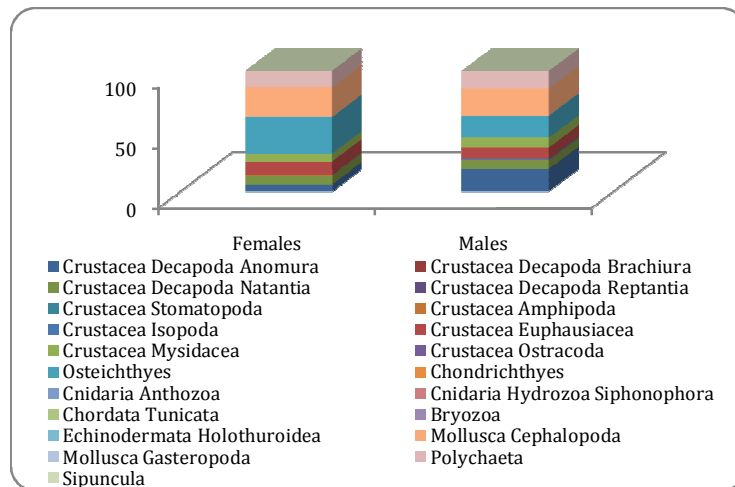


Fig. 28: Composizione della dieta nei due sessi di *Scyliorhinus canicula* (%I.R.I.)

La diversità trofica che caratterizza la dieta dei due sessi è simile, ma lievemente maggiore nei maschi ( $H'-F = 1.87$  e  $H'-M = 2.00$ ); l'indice di equitabilità ( $J-F = 0.64$  e  $J-M = 0.65$ ), inoltre, suggerisce una simile ripartizione per tutte le prede all'interno della dieta di ambo i sessi.

La similitudine tra la dieta viene confermata statisticamente mediante i test di Kolmogorov-Smirnov ( $K-S = 0.46$ ,  $P\text{-value} > 0.05$ ), e Simper che individua una dissimilarità tra le diete pari al 10 %, dovuta fondamentalmente al contributo dei Decapodi Anomuri nella dieta del campione maschile.

Di conseguenza, anche l'ampiezza della dieta è caratterizzata da valori molto simili tra loro, leggermente superiori per i maschi ( $Bi-F = 0.52$  e  $Bi-M = 0.58$ ), e la sovrapposizione è quasi totale con valore dell'indice di Morisita pari a 0.98.

I due sessi differiscono statisticamente per quanto concerne il livello trofico, in particolare le femmine mostrano un livello trofico maggiore rispetto ai maschi ( $TROPH-F = 3.93 \pm 0.57$  e  $TROPH-M = 3.79 \pm 0.52$ ) ( $t = 3.412$ ;  $P\text{-value} < 0.05$ ).

Tab. 18: Composizione della dieta di *Scylliorhinus canicula* nei due sessi e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	Females				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	2,738	3,714	0,078	0,465	10,455
Crustacea Decapoda NI	3,382	5,040	0,262	0,817	18,361
Crustacea Decapoda Anomura	6,602	7,427	10,771	5,744	129,032
Crustacea Decapoda Brachyura	0,966	1,061	0,481	0,068	1,535
Crustacea Decapoda Natantia	6,602	8,753	11,011	6,863	154,172
Crustacea Amphipoda	2,576	3,448	0,036	0,401	9,009
Crustacea Isopoda	2,254	2,918	0,725	0,387	8,695
Crustacea Euphausiacea	20,129	10,345	3,003	10,653	239,300
Crustacea Mysidacea	12,721	10,080	1,137	6,219	139,691
Crustacea Ostracoda	0,483	0,796	0,000	0,017	0,385
Crustacea Stomatopoda	0,322	0,531	0,016	0,008	0,179
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,966	0,796	0,010	0,035	0,777
Tunicata	0,161	0,265	0,053	0,003	0,057
Echinodermata Holothuroidea	2,576	1,061	1,414	0,188	4,234
Osteichthyes	14,976	16,976	24,728	30,006	674,021
Mollusca Cephalopoda	14,010	13,263	27,239	24,354	547,071
Polychaeta	7,890	12,467	16,799	13,703	307,801
Chondrichthyes	0,322	0,531	1,299	0,038	0,860
Sipuncula	0,322	0,531	0,937	0,030	0,668
Preys	Males				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,231	3,581	0,095	0,580	11,908
Crustacea Decapoda NI	2,349	3,836	0,188	0,474	9,736
Crustacea Decapoda Anomura	11,160	12,532	18,853	18,306	376,122
Crustacea Decapoda Brachyura	0,587	1,023	0,303	0,044	0,911
Crustacea Decapoda Natantia	5,727	9,207	9,890	6,998	143,787
Crustacea Decapoda Reptantia	0,147	0,256	0,027	0,002	0,045
Crustacea Amphipoda	1,615	2,302	0,023	0,184	3,772
Crustacea Isopoda	4,112	3,836	1,370	1,024	21,030
Crustacea Euphausiacea	20,117	8,184	3,108	9,251	190,084
Crustacea Mysidacea	12,775	11,509	1,183	7,819	160,643
Crustacea Ostracoda	0,441	0,256	0,000	0,005	0,113
Crustacea Stomatopoda	0,587	1,023	0,031	0,031	0,632
Cnidaria Anthozoa	0,147	0,256	0,063	0,003	0,054
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	2,496	0,767	0,027	0,094	1,936
Tunicata	0,147	0,256	0,050	0,002	0,050
Bryozoa	0,147	0,256	0,004	0,002	0,038
Echinodermata Holothuroidea	2,349	2,558	1,335	0,459	9,423
Osteichthyes	9,692	14,066	16,571	17,980	369,423
Mollusca Cephalopoda	13,656	10,997	27,495	22,027	452,563
Mollusca Gasteropoda	0,147	0,256	0,457	0,008	0,154
Polychaeta	7,783	12,020	17,158	14,591	299,795
Sipuncula	0,587	1,023	1,769	0,117	2,410

## Variazioni ontogenetiche della dieta.

Eventuali variazioni nella dieta, legate al processo di accrescimento degli individui, sono state determinate mediante l'analisi dello spettro trofico degli individui ripartiti in tre classi di taglia (classe Small: S,  $LT < 30.0$  cm; classe Medium: M,  $15.0 \leq LT \leq 30.0$  cm; e classe Big: B,  $LT > 30.0$  cm).

L'indice di vacuità non segue un andamento regolare all'aumentare della taglia: il valore massimo corrisponde agli individui Medium ( $VI = 17\%$ ), mentre il valore minimo è relativo agli individui Small ( $VI = 5\%$ ).

Il risultato dell'analisi dell'indice di abbondanza non permette di individuare nessuna categoria dominante (Tab. 19). Negli individui Small le prede maggiormente consumate sono Eufausiacei, Misidacei e Cefalopodi ( $\%Cn = 28$ ,  $\%Cn = 20$  e  $\%Cn = 12$ , rispettivamente), mentre tutti gli altri taxa vengono consumati solo occasionalmente (Fig. 29).

Gli individui Medium e Big sono accomunati da una maggiore rilevanza di Decapodi Anomuri e Teleostei, che sostituiscono parzialmente Eufausiacei e Misidacei, comunque presenti ma con percentuali inferiori (Fig. 29). La classe di taglia che raggruppa gli esemplari Big è, inoltre, caratterizzata dall'incremento delle abbondanze di Cefalopodi e Policheti ( $\%Cn = 26\%$  e  $\%Cn = 10\%$ ); i primi costituiscono la classe maggiormente rappresentativa per gli individui Big (Fig. 29).

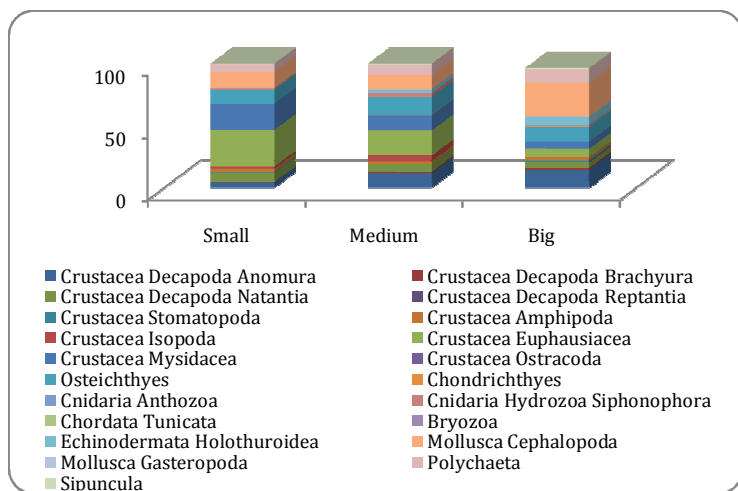


Fig. 29: Composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla classe di taglia (%Cn)

L'esame della dieta mediante l'indice di importanza relativa percentuale permette di evidenziare una minore variabilità (Fig. 30 e Tab. 19). La dieta degli esemplari Small è costituita fondamentalmente da Eufausiacei, Cefalopodi e Teleostei ( $\%I.R.I. = 22$ ,  $\%I.R.I. = 22$  e  $\%I.R.I. = 20$ , rispettivamente) (Fig. 30). L'importanza dei pesci ossei si accresce negli individui Medium, per cui questo taxon è il più importante ( $\%I.R.I. = 30\%$ ), seguito poi da Cefalopodi e Policheti ( $\%I.R.I. = 17\%$  e  $\%I.R.I. = 18\%$ ).

Negli individui Big, infine, i Policheti sono la categoria più importante nella dieta, costituendo quasi il 50% delle prede totali, mentre Cefalopodi e Teleostei rappresentano prede secondarie (%I.R.I. = 22% e %I.R.I. = 14%).

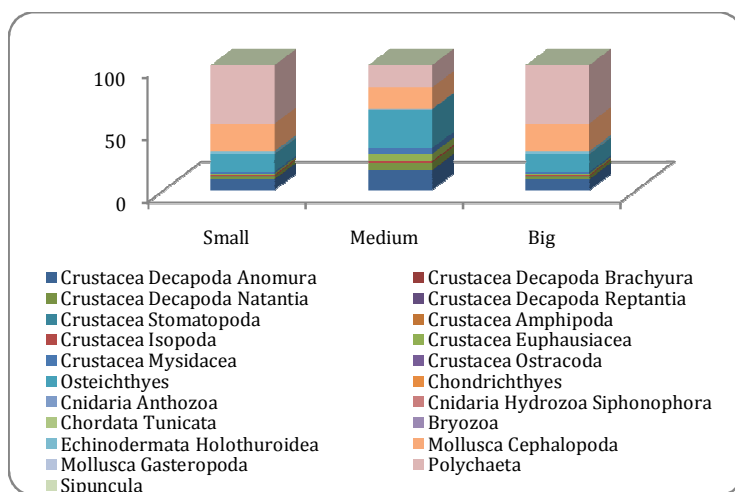


Fig. 30: Composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla classe di taglia (%I.R.I.)

La similarità tra la dieta nelle tre differenti classi di taglia, valutata mediante l'osservazione dell'analisi gerarchica mediante cluster (Fig. 31) è molto elevata. Ad un livello di similarità di Bray-Curtis dell'80% vengono individuati tre gruppi. Il primo è formato dagli individui Big, il secondo dagli individui Small ed, infine, il terzo dagli individui Medium.

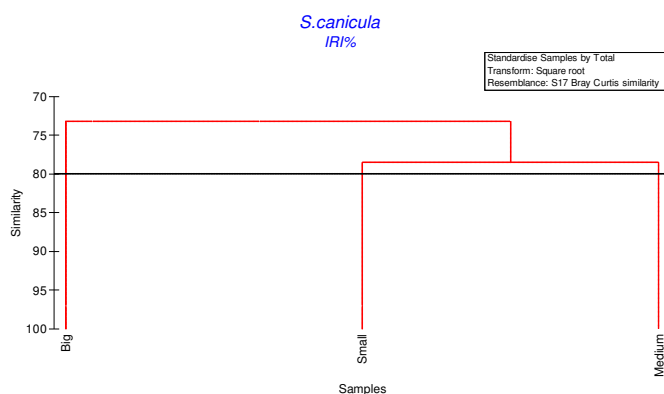


Fig. 31: Dendrogramma per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla taglia (%I.R.I.)

Tab. 19: Composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla taglia e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	Small				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,037	4,262	0,110	0,574	13,414
Crustacea Decapoda NI	3,905	5,246	0,385	0,964	22,504
Crustacea Decapoda Anomura	4,121	4,262	8,573	2,317	54,109
Crustacea Decapoda Brachyura	0,217	0,328	0,138	0,005	0,116
Crustacea Decapoda Natantia	6,941	9,180	14,761	8,530	199,235
Crustacea Stomatopoda	0,651	0,984	0,149	0,034	0,786
Crustacea Amphipoda	2,386	3,607	0,043	0,375	8,760
Crustacea Isopoda	1,518	1,967	0,623	0,180	4,213
Crustacea Euphausiacea	27,549	15,738	5,241	22,095	516,043
Crustacea Mysidacea	19,523	15,738	2,226	14,655	342,270
Crustacea Ostracoda	0,217	0,328	0,000	0,003	0,071
Osteichthyes	9,978	14,754	21,009	19,575	457,184
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	1,302	0,984	0,017	0,056	1,297
Chordata Tunicata	0,217	0,328	0,088	0,004	0,100
Echinodermata Holothuroidea	0,434	0,328	0,304	0,010	0,242
Mollusca Cephalopoda	11,714	12,459	29,040	21,740	507,757
Polychaeta	6,074	9,180	16,488	8,868	207,127
Sipuncula	0,217	0,328	0,804	0,014	0,335
Preys	Medium				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	2,492	3,561	0,070	0,418	9,125
Crustacea Decapoda NI	2,492	4,451	0,191	0,547	11,943
Crustacea Decapoda Anomura	11,215	11,573	18,117	15,534	339,452
Crustacea Decapoda Brachyura	1,090	1,484	0,538	0,111	2,415
Crustacea Decapoda Natantia	6,075	8,012	10,032	5,905	129,045
Crustacea Stomatopoda	0,156	0,297	0,028	0,002	0,054
Crustacea Amphipoda	1,713	2,374	0,024	0,189	4,124
Crustacea Isopoda	4,517	3,858	1,439	1,052	22,978
Crustacea Euphausiacea	19,003	5,638	2,808	5,627	122,969
Crustacea Mysidacea	10,592	8,605	0,938	4,540	99,216
Crustacea Ostracoda	0,779	0,890	0,000	0,032	0,694
Osteichthyes	14,486	17,507	23,685	30,582	668,282
Chondrichthyes	0,156	0,297	0,622	0,011	0,231
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	2,648	0,890	0,027	0,109	2,382
Chordata Tunicata	0,156	0,297	0,052	0,003	0,062
Echinodermata Holothuroidea	2,804	2,077	1,523	0,411	8,988
Mollusca Cephalopoda	10,748	11,869	20,693	17,078	373,179
Mollusca Gasteropoda	0,156	0,297	0,463	0,008	0,184
Polychaeta	8,255	15,134	17,404	17,770	388,320

Sipuncula	0,467	0,890	1,346	0,074	1,614
	Big				
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	4,787	3,000	0,223	0,661	15,031
Crustacea Decapoda NI	2,128	4,000	0,006	0,375	8,535
Crustacea Decapoda Anomura	13,830	12,000	1,750	8,218	186,954
Crustacea Decapoda Brachyura	1,064	2,000	0,492	0,137	3,111
Crustacea Decapoda Natantia	4,255	6,000	3,464	2,036	46,317
Crustacea Decapoda Reptantia	0,532	1,000	0,356	0,039	0,888
Crustacea Stomatopoda	1,064	2,000	0,100	0,102	2,328
Crustacea Amphipoda	2,128	3,000	0,101	0,294	6,685
Crustacea Isopoda	3,191	5,000	0,241	0,754	17,162
Crustacea Euphausiacea	6,383	4,000	0,198	1,157	26,325
Crustacea Mysidacea	5,319	5,000	0,000	1,169	26,596
Osteichthyes	11,170	15,000	9,927	13,911	316,464
Chondrichthyes	0,532	1,000	0,692	0,054	1,224
Cnidaria Anthozoa	0,532	1,000	1,436	0,087	1,968
Bryozoa	0,532	1,000	0,020	0,024	0,552
Echinodermata Holothuroidea	5,851	6,000	2,165	2,114	48,098
Mollusca Cephalopoda	25,532	13,000	12,165	21,541	490,061
Polychaeta	10,106	14,000	66,645	47,232	1074,520
Sipuncula	1,064	2,000	0,018	0,095	2,164

La similarità tra i gruppi è sempre piuttosto sostenuta, valori di dissimilarità minimi (inferiori al 30%) sono evidenziati mediante il test Simper; pertanto, nessuna differenza statisticamente significativa emerge dal confronto tra la dieta delle tre classi di taglia ( $K-W = 0.38$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ).

La diversità trofica sembra essere influenzata negativamente dalla taglia: al crescere delle dimensioni corporee, infatti, si osserva un lieve decremento, non statisticamente significativo ( $R = -0.72$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ), del valore di  $H'$ . L'indice di equitabilità  $J$ , tuttavia, indica una simile ripartizione delle risorse all'interno della dieta dei singoli gruppi ( $J-S = 0.66$ ;  $J-M = 0.64$ ;  $J-B = 0.54$ ).

I valori massimi di ampiezza della dieta si osservano per gli individui Medium ( $B_i = 0.60$ ), mentre individui Small e Big hanno ampiezze dello spettro trofico intermedie e quasi identiche ( $B_i = 0.47$  e  $B_i = 0.48$ ). La sovrapposizione di nicchia tra i tre gruppi è alquanto consistente, con valori sempre biologicamente significativi, in particolar modo tra il gruppo degli individui Small e Medium e tra gli individui Medium e Big ( $C = 0.88$  e  $C = 0.76$ ).

L'applicazione dell'indice TROPH, infine, evidenzia un leggero ma graduale incremento dell'indice trofico della specie all'aumentare della taglia. L'indice trofico per tutte le categorie ricade nel range di valori identificativi di predatori carnivori, la cui dieta si basa prevalentemente sul consumo di Policheti, Crostacei di piccole dimensioni, Molluschi ed Echinodermi. Differenze statisticamente



significative emergono dal confronto tra il TROPH di esemplari Small e Medium e Small e Big ( $t=2.314$ ;  $P\text{-value} < 0.05$  e  $t=3.538$ ;  $P\text{-value} < 0.05$ ), mentre nessuna differenza significativa è stata riscontrata tra individui Medium e Big ( $t=1.741$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ).

Variazione della dieta in funzione dello stadio maturativo.

L'analisi della dieta è stata condotta anche considerando l'influenza del processo riproduttivo sulle abitudini alimentari. Gli esemplari sono stati suddivisi in tre gruppi (Immature, Mature e Spent) in base alla fase del ciclo maturativo delle gonadi. La percentuale minima di stomaci vuoti caratterizza gli individui immaturi, mentre gli esemplari maturi ed in post-deposizione presentano valori di indici di vacuità un po' più elevati ( $VI = 17\%$ ).

Eufausiacei e Misidacei costituiscono le categorie più abbondanti nella dieta degli individui immaturi ( $\%Cn = 23\%$  e  $\%Cn = 17\%$ ). Teleostei e Molluschi Cefalopodi, invece, rientrano tra le prede secondarie, mentre tutte le altre categorie di prede vengono consumate solo occasionalmente (Fig. 32, Tab. 20).

La dieta degli esemplari maturi è caratterizzata da Eufausiacei e Cefalopodi con indici di abbondanza percentuale pari al 20% e al 18% rispettivamente (Fig. 32, Tab. 20). Negli individui in post deposizione i Teleostei rappresentano il taxon più abbondante ( $\%Cn = 22$ ), accompagnato da prede secondarie quali Misidacei, Echinodermi e Policheti (Fig. 32, Tab. 20).

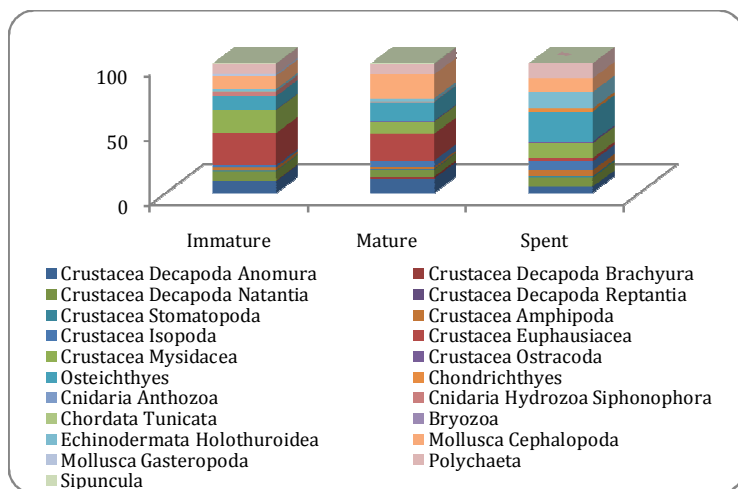


Fig. 32: Variazione della composizione della dieta di *Scyllorhinus canicula* in funzione dello stadio di maturità (%Cn)

Per quanto riguarda l'importanza relativa percentuale delle prede, Teleostei, Eufausiacei e Molluschi Cefalopodi sono le prede secondarie più significative nella dieta degli individui immaturi; tutte le altre prede presentano, invece, valori dell'indice %I.R.I. molto bassi (Fig. 33, Tab. 20).

L'importanza dei Teleostei è maggiore negli individui maturi (%I.R.I. = 25%) per i quali, però, sono i Molluschi Cefalopodi il taxon più importante (%I.R.I. = 32%). Nella dieta di questo gruppo anche i Decapodi Anomuri e Policheti rivestono una discreta importanza (%I.R.I. = 13% e % I.R.I. = 14%, rispettivamente) (Tab. 20).

La dieta degli individui in post-riproduzione appare costituita prevalentemente da Teleostei (%I.R.I. = 49%), seguiti da Policheti e Molluschi Cefalopodi (%I.R.I. = 21% e %I.R.I. = 12%) (Fig. 33, Tab. 20).

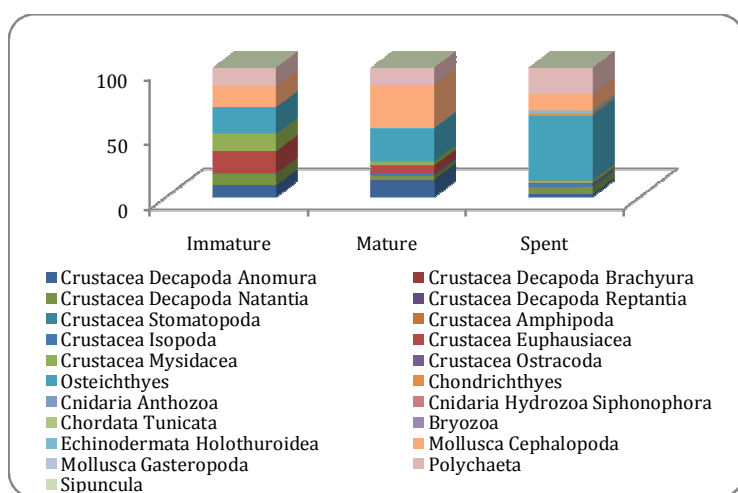


Fig. 33: Variazione della composizione della dieta di *Scylliorhinus canicula* in funzione dello stadio di maturità (%I.R.I.)

L'analisi gerarchica mediante cluster permette l'individuazione di due gruppi (similarità di Bray-Curtis del 73%): uno costituito dall'insieme degli individui immaturi maturi ed uno rappresentato dagli individui in fase post-riproduttiva (Fig. 34). Le similitudini all'interno del gruppo costituito dagli individui immaturi e maturi sono molto elevate e quantificabili nell'82.2% (Simper test), mentre le differenze tra i due gruppi, pari al 28% circa (Simper test), sono dovute principalmente all'apporto di Eufausiacei e Teleostei. Nessuna differenza significativa emerge dal confronto tra la dieta dei tre gruppi (K-W = 0.007 e P-value > 0.05).

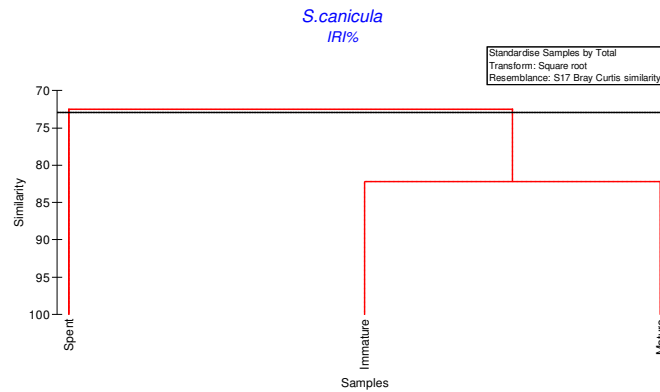


Fig. 34: Dendrogramma per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione allo stadio di maturità (%I.R.I.)

Tab. 20: Composizione della dieta negli individui immaturi, maturi e spenti di *Scyliorhinus canicula* e relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	Immature				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,040	3,960	0,101	0,596	12,440
Crustacea Decapoda NI	3,200	4,455	0,289	0,745	15,545
Crustacea Decapoda Anomura	8,480	7,673	16,150	9,057	188,990
Crustacea Decapoda Brachyura	0,320	0,495	0,186	0,012	0,250
Crustacea Decapoda Natantia	6,880	9,406	11,837	8,437	176,049
Crustacea Stomatopoda	0,480	0,743	0,084	0,020	0,419
Crustacea Amphipoda	2,240	3,465	0,037	0,378	7,890
Crustacea Isopoda	1,440	1,980	0,541	0,188	3,923
Crustacea Euphausiacea	23,360	12,624	4,069	16,595	346,257
Crustacea Mysidacea	16,640	14,604	1,737	12,862	268,373
Crustacea Ostracoda	0,320	0,495	0,000	0,008	0,159
Osteichthyes	9,760	14,851	18,813	20,337	424,351
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	3,520	1,238	0,043	0,211	4,409
Chordata Tunicata	0,160	0,248	0,062	0,003	0,055
Echinodermata Holothuroidea	1,440	0,743	0,922	0,084	1,754
Mollusca Cephalopoda	9,600	10,891	21,790	16,384	341,867
Mollusca Gasteropoda	1,440	0,248	5,048	0,077	1,606
Polychaeta	7,360	11,386	18,292	13,998	292,078
Sipuncula	0,320	0,495	0,000	0,008	0,158
Preys	Mature				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,093	3,597	0,084	0,504	11,429
Crustacea Decapoda NI	2,234	4,317	0,166	0,457	10,357
Crustacea Decapoda Anomura	10,309	11,151	16,119	13,005	294,709
Crustacea Decapoda Brachyura	1,375	2,158	0,656	0,193	4,383

Crustacea Decapoda Natantia	5,155	6,475	4,944	2,885	65,384
Crustacea Decapoda Reptantia	0,172	0,360	0,029	0,003	0,072
Crustacea Stomatopoda	0,344	0,719	0,017	0,011	0,259
Mature					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Amphipoda	1,375	2,518	0,018	0,155	3,508
Crustacea Isopoda	4,639	4,317	1,431	1,156	26,201
Crustacea Euphausiacea	19,588	6,475	2,801	6,397	144,964
Crustacea Mysidacea	8,935	7,194	0,766	3,079	69,786
Crustacea Ostracoda	0,515	0,360	0,000	0,008	0,186
Osteichthyes	13,746	16,187	21,753	25,357	574,626
Cnidaria Anthozoa	0,172	0,360	0,068	0,004	0,086
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,172	0,360	0,002	0,003	0,062
Chordata Tunicata	0,172	0,360	0,055	0,004	0,082
Bryozoa	0,172	0,360	0,004	0,003	0,063
Echinodermata Holothuroidea	2,062	3,237	1,084	0,449	10,186
Mollusca Cephalopoda	17,526	14,748	32,659	32,660	740,141
Polychaeta	7,560	13,309	15,427	13,500	305,938
Sipuncula	0,687	1,439	1,916	0,165	3,745
Spent					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	2,174	3,279	0,054	0,297	7,304
Crustacea Decapoda NI	4,348	6,557	0,292	1,235	30,423
Crustacea Decapoda Anomura	4,348	4,918	6,148	2,096	51,619
Crustacea Decapoda Natantia	6,522	8,197	9,427	5,308	130,730
Crustacea Stomatopoda	1,087	1,639	0,141	0,082	2,012
Crustacea Amphipoda	4,348	1,639	0,053	0,293	7,214
Crustacea Isopoda	6,522	6,557	1,819	2,221	54,694
Crustacea Euphausiacea	2,174	3,279	0,281	0,327	8,049
Crustacea Mysidacea	10,870	4,918	0,842	2,339	57,599
Crustacea Ostracoda	1,087	1,639	0,001	0,072	1,783
Osteichthyes	21,739	22,951	31,113	49,253	1212,998
Chondrichthyes	2,174	3,279	7,599	1,301	32,0419
Echinodermata Holothuroidea	11,957	3,279	5,687	2,349	57,847
Mollusca Cephalopoda	9,783	11,475	16,486	12,240	301,447
Polychaeta	10,870	16,393	20,058	20,587	507,011

La ricchezza in specie della dieta segue un andamento regolare: al procedere della maturazione dell'individuo corrisponde una riduzione del valore dell'indice di Shannon-Wiener ( $H'-I = 2.01$ ,  $H'-M = 1.80$ ,  $H'-I = 1.60$ ). La maggiore equitabilità delle risorse viene rilevata per gli individui immaturi ( $J = 0.68$ ), mentre il valore dell'indice di equitabilità per individui maturi e spenti è pari a 0.59.

L'ampiezza della dieta è massima negli individui in fase post-riproduttiva ( $Bi = 0.80$ ), mentre ha valori intermedi nei restanti stadi maturativi ( $Bi-I = 0.61$  e  $Bi-M = 0.52$ ). Ne consegue che la sovrapposizione

della dieta è massima tra gli individui immaturi e maturi ( $C = 0.72$ ), ciononostante, anche i valori di sovrapposizione relativi agli altri stadi maturativi sono biologicamente significativi.

La valutazione del livello trofico, infine, colloca gli individui di tutti gli stadi maturativi nella categoria dei carnivori, tuttavia gli esemplari in post-deposizione presentano un livello di TROPH molto elevato ( $TROPH = 4.01 \pm 0.64$ ). Gli individui immaturi differiscono dagli individui maturi ed in post deposizione per quanto concerne il valore di TROPH ( $t = 6.287$ ;  $P\text{-value} < 0.05$  e  $t = 3.738$ ;  $P\text{-value} < 0.05$  rispettivamente), mentre nessuna differenza emerge per gli individui maturi e spenti ( $t = 0.241$ ;  $P\text{-value} > 0.05$ ).

Variazione della dieta in funzione dell'area di campionamento.

Analogamente a quanto riscontrato per *M. merluccius*, l'indice di vacuità evidenzia una notevole variabilità tra le diverse aree di campionamento. La percentuale di stomaci vuoti varia tra valori minimi ( $VI = 4\%$ ), calcolati nelle aree del golfo di Olbia e delle coste algheresi (zone 2 e 4), a valori decisamente massimi ( $VI = 43\%$ ), che caratterizzano il golfo oristanese.

La dieta degli esemplari di tutte le stazioni di campionamento, ad eccezione di quelli catturati nella Zona 2, è caratterizzata dalla presenza degli Eufausiacei come prede secondarie. Le abbondanze percentuali di questo taxon sono sempre inferiori al 20%, eccetto nell'area del Golfo di Cagliari ( $\%Cn = 45\%$ ), in cui gli Eufausiacei costituiscono la categoria di prede maggiormente abbondante (Fig. 35).

Cefalopodi, Misidacei e Teleostei sono prede secondarie nella dieta nel 70% delle aree campionate, con abbondanze massime di Molluschi e Crostacei nella zona 6 (Sulcis-Iglesiente), mentre i Teleostei rappresentano le prede più abbondanti per gli individui catturati nella zona 4 (Sardegna nord-occidentale) (Fig. 35).

Decapodi Anomuri e Natanti hanno abbondanze massime nelle aree 2 e 5 rispettivamente, mentre i Policheti vengono predati con una certa consistenza solo nelle zone 2 e 3 (Fig. 35). I restanti taxa sono rappresentati da abbondanze molto limitate e pertanto vengono considerate prede occasionali (Tab. 21).

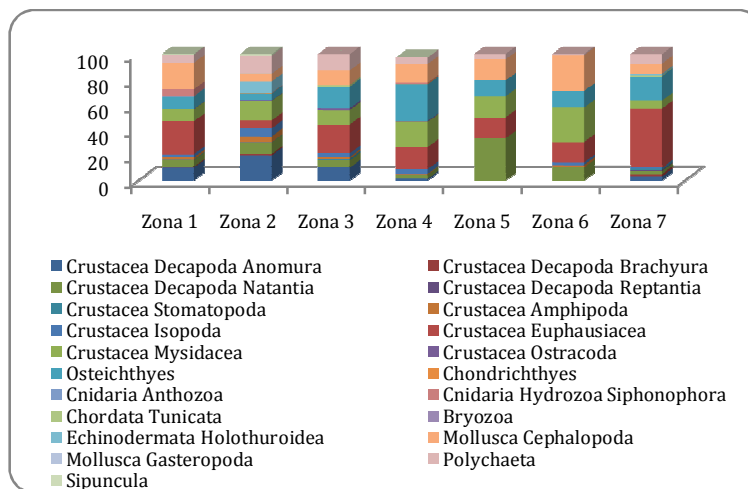


Fig. 35: Variazione della composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in funzione dell'area di campionamento (%Cn).

L'analisi dell'indice di importanza relativa delle prede non permette di evidenziare un modello definito. I Teleostei hanno maggiore importanza nella dieta degli esemplari catturati nella zona 4 (Sardegna nord-occidentale) (%I.R.I. = 58%), insieme ai Cefalopodi (%I.R.I. = 23%), mentre tutte le altre prede sono caratterizzate da valori di %I.R.I. sotto il 10% (Fig. 36).

Le diete degli individui provenienti dalla costa nord e nord-orientale (Zona 2 e Zona 3) sono accomunate da una importante presenza di Policheti (%I.R.I. = 31% e %I.R.I. = 26%, rispettivamente), accompagnati da Decapodi Anomuri nella zona 2 (%I.R.I. = 33%), e Teleostei nella zona 3 (%I.R.I. = 33%). I Molluschi Cefalopodi costituiscono la parte più importante della dieta nelle acque ogliastrene e nel Sulcis (Zona 1 e 6), arrivando a costituire quasi il 50% delle prede totali (%I.R.I. = 49%) nella costa sud-occidentale.

Nella zona 5, corrispondente alle coste centro-orientali, è notevole l'importanza dei Decapodi Natanti (%I.R.I. = 46%) e dei Molluschi Cefalopodi (%I.R.I. = 25%).

Infine, l'area del golfo cagliaritano si mostra particolarmente eterogenea: la categoria dei Teleostei è dominante (%I.R.I. = 45%) ma viene accompagnata da Eufausiacei, Cefalopodi e Policheti, tutti caratterizzati da valori di %I.R.I. pari a 16% (Fig. 36, Tab. 21).

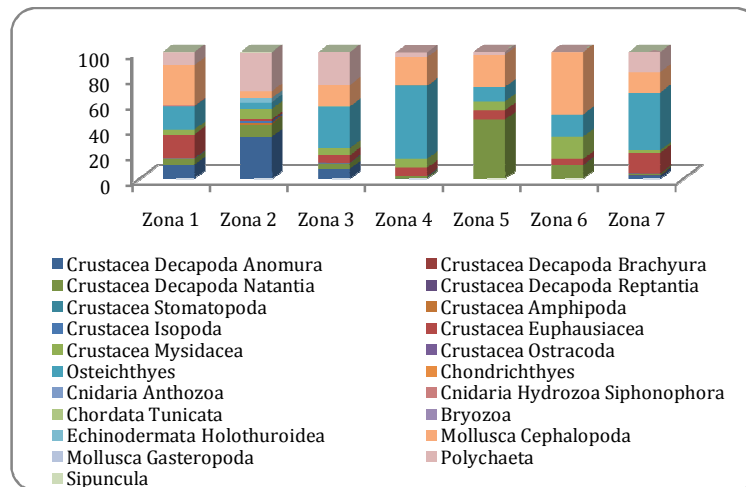


Fig. 36: Variazione della composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in funzione dell'area di campionamento (%I.R.I.).

Tab. 21: Composizione della dieta negli individui di *Scyliorhinus canicula* catturati nella varie stazioni di campionamento con relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Zona 1					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	5,430	6,198	0,164	1,634	34,671
Crustacea Decapoda NI	3,620	5,785	0,297	1,068	22,657
Crustacea Decapoda Anomura	9,050	9,091	15,635	10,575	224,410
Crustacea Decapoda Brachyura	0,679	1,240	0,358	0,061	1,285
Crustacea Decapoda Natantia	4,751	7,025	8,391	4,351	92,323
Crustacea Stomatopoda	0,452	0,826	0,024	0,019	0,394
Crustacea Amphipoda	1,584	2,893	0,024	0,219	4,649
Crustacea Isopoda	2,262	3,306	0,771	0,473	10,028
Crustacea Euphausiacea	23,756	13,636	3,754	17,678	375,130
Crustacea Mysidacea	8,597	8,264	0,814	3,665	77,779
Crustacea Ostracoda	0,226	0,413	0,000	0,004	0,094
Osteichthyes	9,050	15,289	15,825	17,922	380,318
Cnidaria Anthozoa	0,226	0,413	0,100	0,006	0,135
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	4,977	2,066	0,055	0,490	10,397
Mollusca Cephalopoda	19,005	11,570	39,132	31,698	672,657
Polychaeta	5,882	11,157	13,263	10,066	213,604
Sipuncula	0,452	0,826	1,394	0,072	1,526
Zona 2					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	1,183	1,422	0,031	0,078	1,727
Crustacea Decapoda NI	2,959	4,739	0,211	0,682	15,023
Crustacea Decapoda Anomura	18,935	15,166	28,503	32,655	719,438
Crustacea Decapoda Brachyura	1,183	0,948	0,544	0,074	1,637
Crustacea Decapoda Natantia	8,580	9,953	13,203	9,840	216,796
Crustacea Stomatopoda	0,296	0,474	0,014	0,007	0,147
Crustacea Amphipoda	4,438	5,213	0,057	1,064	23,436
Crustacea Isopoda	6,213	3,791	1,845	1,387	30,551
Crustacea Euphausiacea	5,917	5,213	0,041	1,410	31,060
Crustacea Mysidacea	14,793	10,900	1,220	7,923	174,552
Crustacea Ostracoda	0,296	0,474	0,000	0,006	0,140
Osteichthyes	5,325	8,531	8,114	5,204	114,647
Chondrichthyes	0,296	0,474	1,101	0,030	0,662
Bryozoa	0,296	0,474	0,006	0,007	0,143
Echinodermata Holothuroidea	8,580	5,687	4,344	3,336	73,502
Mollusca Cephalopoda	5,917	7,109	10,616	5,335	117,533
Mollusca Gasteropoda	0,296	0,474	0,820	0,024	0,529
Polychaeta	13,314	17,062	26,154	30,564	673,385
Sipuncula	1,183	1,896	3,176	0,375	8,264



Zona 3					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	1,370	1,961	0,037	0,109	2,759
Crustacea Decapoda NI	2,740	3,922	0,201	0,455	11,533
Crustacea Decapoda Anomura	9,589	7,843	14,842	7,559	191,616
Crustacea Decapoda Natantia	5,479	7,843	8,670	4,378	110,976
Crustacea Stomatopoda	1,370	1,961	0,066	0,111	2,815
Crustacea Amphipoda	1,370	1,961	0,018	0,107	2,722
Crustacea Isopoda	2,740	1,961	0,836	0,277	7,012
Crustacea Euphausiacea	21,918	5,882	3,103	5,806	147,180
Crustacea Mysidacea	10,959	11,765	0,930	5,518	139,865
Crustacea Ostracoda	1,370	1,961	0,001	0,106	2,688
Osteichthyes	16,438	19,608	25,752	32,635	827,268
Chordata Tunicata	1,370	1,961	0,425	0,139	3,518
Mollusca Cephalopoda	10,959	13,725	20,216	16,880	427,891
Polychaeta	12,329	17,647	24,903	25,920	657,036
Zona 4					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	0,641	1,087	0,018	0,020	0,716
Crustacea Decapoda NI	2,564	3,261	0,192	0,245	8,989
Crustacea Decapoda Anomura	1,282	2,174	2,029	0,196	7,199
Crustacea Decapoda Natantia	3,205	5,435	5,186	1,243	45,605
Crustacea Amphipoda	0,641	1,087	0,009	0,019	0,706
Crustacea Isopoda	3,846	3,261	1,201	0,448	16,458
Crustacea Euphausiacea	17,308	11,957	2,506	6,455	236,899
Crustacea Mysidacea	19,872	11,957	1,724	7,035	258,208
Crustacea Ostracoda	0,641	1,087	0,000	0,019	0,697
Osteichthyes	28,846	28,261	46,214	57,797	2121,252
Chondrichthyes	0,641	1,087	2,508	0,093	3,423
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,641	1,087	0,006	0,019	0,704
Mollusca Cephalopoda	14,744	19,565	27,813	22,686	832,638
Polychaeta	5,128	8,696	10,593	3,725	136,708
Zona 5					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda Natantia	33,333	23,077	45,760	46,437	1825,224
Crustacea Euphausiacea	16,667	15,385	2,047	7,325	287,904
Crustacea Mysidacea	16,667	15,385	1,227	7,004	275,281
Osteichthyes	12,500	15,385	16,990	11,543	453,690
Mollusca Cephalopoda	16,667	23,077	26,675	25,447	1000,185
Polychaeta	4,167	7,692	7,302	2,245	88,221
Zona 6					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	7,407	10,294	0,227	2,315	78,587
Crustacea Decapoda NI	0,926	1,471	0,077	0,043	1,475
Crustacea Decapoda Natantia	9,259	13,235	16,596	10,083	342,198

Preys	Zona 6				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Amphipoda	1,852	2,941	0,028	0,163	5,529
Crustacea Isopoda	1,852	2,941	0,640	0,216	7,330
Crustacea Euphausiacea	14,815	8,824	2,376	4,469	151,681
Crustacea Mysidacea	25,000	20,588	2,402	16,623	564,162
Osteichthyes	12,037	17,647	21,361	17,365	589,371
Mollusca Cephalopoda	25,926	20,588	54,175	48,591	1649,138
Polychaeta	0,926	1,471	2,119	0,132	4,477
Preys	Zona 7				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	0,602	1,333	0,021	0,031	0,832
Crustacea Decapoda NI	3,012	6,667	0,291	0,819	22,021
Crustacea Decapoda Anomura	3,012	6,667	6,140	2,268	61,011
Crustacea Decapoda Brachyura	1,807	4,000	1,124	0,436	11,725
Crustacea Decapoda Natantia	2,410	4,000	5,021	1,105	29,723
Crustacea Decapoda Reptantia	0,602	1,333	0,135	0,037	0,983
Crustacea Stomatopoda	1,205	2,667	0,076	0,127	3,416
Crustacea Isopoda	0,602	1,333	0,242	0,042	1,126
Crustacea Euphausiacea	45,181	8,000	8,423	15,939	428,831
Crustacea Mysidacea	6,024	8,000	0,673	1,991	53,576
Osteichthyes	18,675	21,333	38,527	45,357	1220,310
Chordata Tunicata	0,602	1,333	0,246	0,042	1,131
Bryozoa	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Echinodermata Holothuroidea	1,205	1,333	0,826	0,101	2,708
Mollusca Cephalopoda	7,831	16,000	19,025	15,971	429,699
Polychaeta	7,229	16,000	19,229	15,735	423,334

L'analisi della dieta per aree mediante cluster individua, per una similarità di Bray-Curtis del 75.26%, 5 gruppi: il primo costituito dalla sola zona 2 (Golfo di Olbia), il secondo rappresentato dalla zona 4 (Alghero), il terzo costituito dall'insieme delle zone 1, 3 e 7, il quarto ed il quinto rappresentati dalla zona 5 (Golfo di Oristano) e 6 (Sulcis-Iglesiente) rispettivamente (Fig. 37).

La similarità all'interno del terzo gruppo, pari al 79% circa, è dovuta principalmente all'apporto di Teleostei e Molluschi Cefalopodi. Le differenze tra i gruppi individuati mediante la Simper analysis sono contenute (Av. Dissimilarity < 30%) per il confronto tra il secondo ed il terzo gruppo, e per il confronto tra le zone limitrofe del Golfo di Oristano e di Alghero, e del Golfo di Oristano e del Sulcis-Iglesiente. Differenze maggiori, invece, caratterizzano i confronti tra i restanti gruppi, con una Av. Dissimilarity sempre superiore al 30%.

Tuttavia, il test di Kruskal-Wallis (K-W = 8.42; P-value >0.05) non evidenzia differenze significative tra la dieta nelle varie zone.

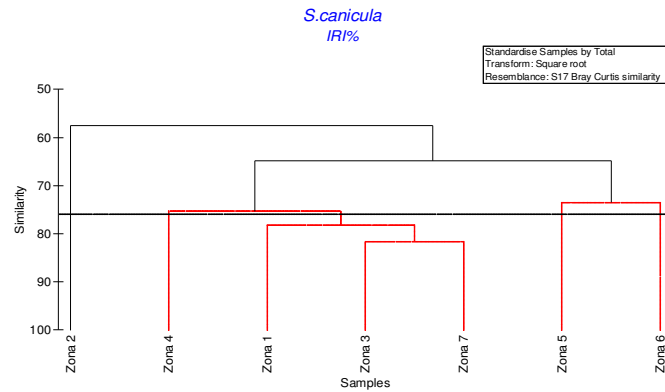


Fig. 37: Dendrogramma per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione all'area di campionamento (%I.R.I.)

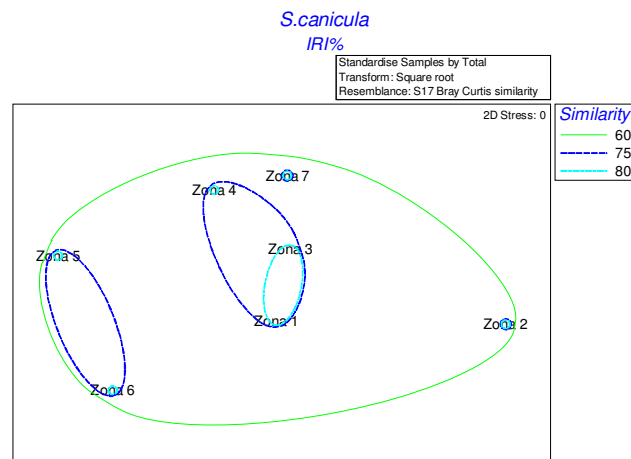


Fig. 38: Rappresentazione MDS per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione all'area di campionamento (%I.R.I.)

La diversità specifica nella dieta non sembra seguire uno schema preciso in riferimento all'area di campionamento: i valori dell'indice di Shannon-Wiener indicano una moderata varietà nelle prede che caratterizzano la dieta in tutte le aree in esame ( $1.26 < H' < 1.90$ ). Lo stesso andamento viene riscontrato per l'indice di Evenness con valori di  $J$  compresi tra 0.48 e 0.80.

Anche l'ampiezza della spettro trofico non sembra essere correlata all'area di studio. I valori dell'indice di Levin sono molto bassi in corrispondenza del Golfo di Cagliari ( $B_i = 0.29$ ), mentre aumentano nella zona di Porto Torres e del Golfo di Oristano ( $B_i = 0.74$ ), valori intermedi sono caratteristici delle restanti aree (Tab. 22).

La sovrapposizione di nicchia riflette l'elevata similarità riscontrata per le diete: i valori dell'indice di Morisita, infatti, sono superiori al limite della significatività biologica nella maggior parte dei confronti (Tab. 22).

Tab. 22: Valori dell'indice di Levin (Bi) e dell'indice di Morisita (C) per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione all'area di campionamento (In rosso i valori biologicamente significativi).

Levin Index		Morisita's Index						
		Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4	Zona 5	Zona 6	Zona 7
Zona 1	0,544	-	0,647	0,928	0,786	0,690	0,811	0,825
Zona 2	0,566	-	-	0,750	0,547	0,522	0,544	0,410
Zona 3	0,743	-	-	-	0,867	0,686	0,748	0,833
Zona 4	0,464	-	-	-	-	0,691	0,860	0,732
Zona 5	0,744	-	-	-	-	-	0,807	0,561
Zona 6	0,628	-	-	-	-	-	-	0,592
Zona 7	0,287	-	-	-	-	-	-	-

Infine, basandosi sui valori dell'indice di importanza relativa percentuale, è stato possibile calcolare il livello trofico delle singole aree di campionamento. I valori ottenuti non permettono di identificare un modello geografico definito per questo parametro.

Ciononostante, il valore di TROPH si mantiene piuttosto elevato lungo tutte le coste isolate, ricadendo sempre all'interno del range identificativo dei carnivori (Tab. 23). Inoltre, il livello trofico degli esemplari catturati nell'area nord-occidentale e sud occidentale della Sardegna (zona 4 e 6 rispettivamente) è superiore al valore soglia (TROPH = 4.00) che caratterizza i carnivori con preferenza per Crostacei Decapodi e Molluschi Cefalopodi (Tab 23).

Tab. 23: Valori del livello trofico (TROPH) ed errore standard (s.e.) per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione all'area di campionamento e relativi confronti statistici (in rosso i valori significativi del *t*-test).

	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4	Zona 5	Zona 6	Zona 7	TROPH	s.e.
Zona 1		9,965	0,490	5,070	0,209	2,874	1,537	3,889	0,499
Zona 2			5,701	12,223	3,431	10,169	8,244	3,428	0,429
Zona 3				3,422	0,057	2,448	1,249	3,849	0,561
Zona 4					1,923	1,435	2,443	4,248	0,700
Zona 5						1,512	0,075	3,863	0,545
Zona 6							1,298	4,105	0,505
Zona 7								3,988	0,625

Variazione della dieta in funzione della profondità di campionamento.

L'analisi della dieta del gattuccio in relazione alla profondità di campionamento è stata condotta utilizzando differenti suddivisioni batimetriche.

Inizialmente sono stati considerati 5 strati batimetrici, che corrispondono a quelli comunemente utilizzati nelle campagne sperimentali di pesca. Successivamente gli strati sono stati accorpati in due macrostrati.

La percentuale di stomaci vuoti sembra essere inversamente correlata alla profondità, come anche osservato per il nasello. Valori minimi dell'indice di vacuità si osservano, infatti, negli strati batimetrici più profondi. Questo andamento è ancora più evidente se si considerano i due macrostrati, per cui i valori dell'indice di vacuità sono pari rispettivamente a 16% e 4% per la piattaforma e la scarpata rispettivamente.

La composizione della dieta, in termini di abbondanza percentuale, è soggetta a notevoli variazioni in funzione della profondità. I Molluschi Cefalopodi costituiscono la principale categoria di prede negli strati batimetrici estremi (%Cn = 42% e %Cn = 47%), mentre i Crostacei Eufausiacei caratterizzano la dieta degli individui catturati negli strati batimetrici oltre i 200 metri, con abbondanze massime nello strato compreso tra 200 e 500 (%Cn = 36%) (Fig. 39). I Teleostei sono presenti in tutti gli strati batimetrici esaminati, con abbondanze molto variabili e massime nelle acque più superficiali (%Cn = 25%). La presenza dei Policheti decresce all'aumentare della profondità, mentre Misidacei e Crostacei Decapodi mostrano valori massimi di %Cn a profondità comprese tra 50 e 200 metri (Fig. 39).

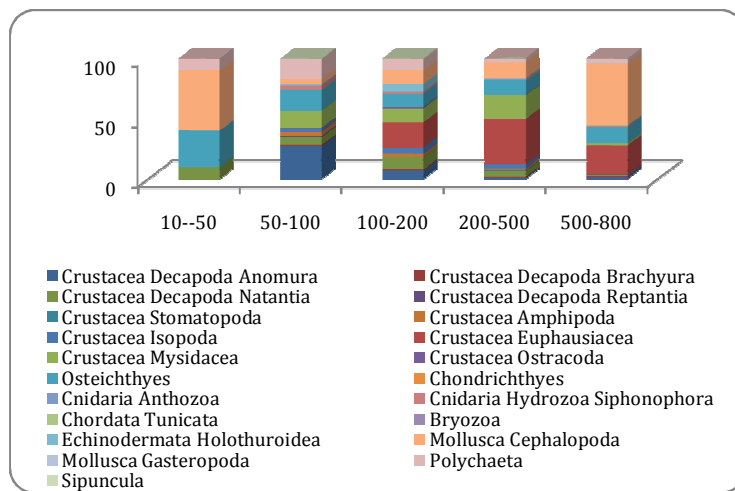


Fig. 39: Variazione della composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in funzione della profondità di campionamento (%Cn).

L'analisi dei valori dell'indice di importanza relativa percentuale, permette di evidenziare la maggiore importanza dei Cefalopodi negli strati 10-50 e 500-800; in entrambi i casi i valori di %I.R.I. superano abbondantemente il 70% (Fig. 40). L'importanza di Teleostei e Misidacei è massima nelle fasce batimetriche centrali, con valori di %I.R.I. relativamente costanti nei tre strati batimetrici (Fig. 40).

L'importanza degli Eufausiacei è limitata alle batimetrie oltre i 100 metri, come osservato anche per la loro abbondanza attraverso l'indice di abbondanza percentuale (%Cn). Le restanti categorie di prede vengono segnalate con percentuali molto basse (Tab. 24).

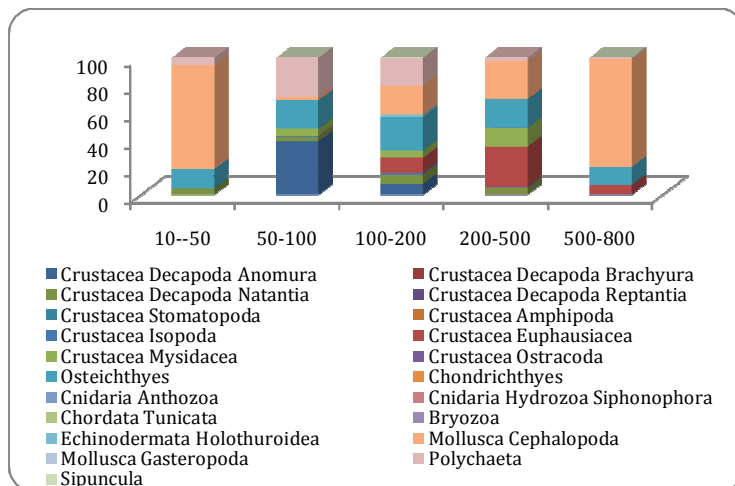


Fig. 40: Variazione della composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* in funzione della profondità di campionamento (%I.R.I.).

Il macrostrato della piattaforma continentale è caratterizzato da un maggior numero di taxa, rappresentati da indici di abbondanza percentuali sempre inferiori al 20% (Fig. 41). La dieta degli individui della scarpata, al contrario, è dominata da poche categorie di prede, Eufausiacei e Cefalopodi in particolare, caratterizzate da valori di %Cn superiori al 20% (Fig. 41).

Dall'analisi dell'indice di importanza relativa percentuale, emerge l'importanza dei Policheti, dei Teleostei e dei Decapodi Anomuri nella dieta degli esemplari della piattaforma. A profondità maggiori corrisponde un incremento del contributo di Molluschi Cefalopodi ed Eufausiacei; i Teleostei, inoltre, rimangono una delle categorie più sfruttate (Fig. 41, Tab. 25).

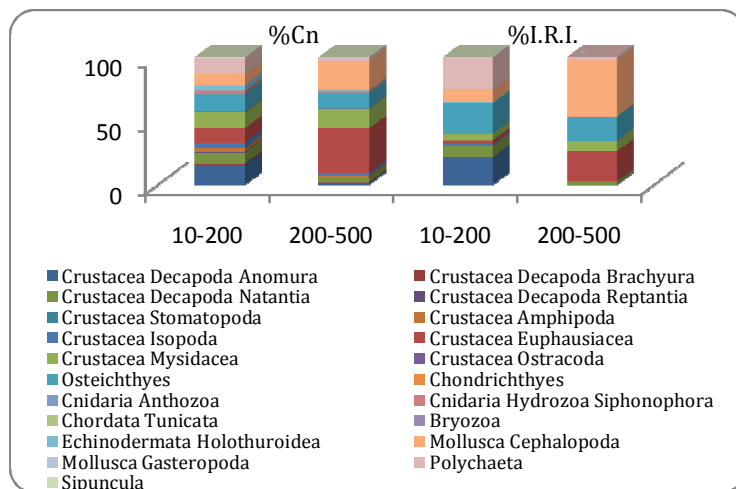


Fig. 41: Variazione della composizione della dieta di *Scyliorhinus canicula* per la piattaforma e la scarpata continentale (%Cn e %I.R.I.).

Tab. 24: Composizione della dieta negli individui di *Scyliorhinus canicula* in funzione della profondità con relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

10-50					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea Decapoda NI	16,667	25,000	0,831	8,636	437,435
Crustacea Decapoda Natantia	8,333	12,500	8,953	4,266	216,084
Osteichthyes	25,000	12,500	26,594	12,733	644,925
Mollusca Cephalopoda	41,667	37,500	52,192	69,488	3519,698
Polychaeta	8,333	12,500	11,430	4,877	247,040
50-100					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	0,311	0,503	0,007	0,005	0,160
Crustacea Decapoda NI	1,863	3,015	0,112	0,190	5,955
Crustacea Decapoda Anomura	26,708	20,101	33,724	38,754	1214,717
Crustacea Decapoda Brachyura	0,932	1,508	0,359	0,062	1,946
Crustacea Decapoda Natantia	6,211	7,035	8,017	3,194	100,101
Crustacea Stomatopoda	0,932	1,508	0,129	0,051	1,599
Crustacea Amphipoda	3,416	3,518	0,037	0,388	12,147
Crustacea Isopoda	2,795	3,518	0,696	0,392	12,281
Crustacea Euphausiacea	0,621	1,005	0,072	0,022	0,696
Crustacea Mysidacea	13,665	10,553	0,946	4,919	154,178
Osteichthyes	16,770	17,085	21,433	20,824	652,711
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	4,037	0,503	0,032	0,065	2,045
Echinodermata Holothuroidea	0,932	1,508	0,396	0,064	2,001
Mollusca Cephalopoda	4,348	6,030	6,543	2,095	65,674
Polychaeta	15,839	21,608	26,099	28,911	906,196
Sipuncula	0,621	1,005	1,398	0,065	2,029
100-200					
Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,931	3,922	0,144	0,803	15,980
Crustacea Decapoda NI	3,931	5,490	0,390	1,193	23,725
Crustacea Decapoda Anomura	6,388	7,843	13,371	7,790	154,971
Crustacea Decapoda Brachyura	0,737	0,392	0,471	0,024	0,474
Crustacea Decapoda Natantia	9,582	11,373	0,951	6,022	119,793
Crustacea Stomatopoda	0,246	0,392	0,016	0,005	0,103
Crustacea Amphipoda	2,211	3,529	0,040	0,399	7,945
Crustacea Isopoda	4,914	3,529	2,029	1,232	24,504
Crustacea Euphausiacea	19,165	9,020	3,669	10,353	205,948
Crustacea Mysidacea	10,811	8,235	1,240	4,989	99,242
Crustacea Ostracoda	0,983	0,784	0,001	0,039	0,771
Osteichthyes	10,074	15,294	21,340	24,152	480,449
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	1,474	0,784	0,020	0,059	1,172
Echinodermata Holothuroidea	5,897	3,529	4,151	1,783	35,464



Mollusca Cephalopoda	10,565	11,373	26,355	21,107	419,870
----------------------	--------	--------	--------	--------	---------

100-200

Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Polychaeta	8,108	12,941	22,147	19,683	391,533
Sipuncula	0,983	1,569	3,667	0,367	7,294

200-500

Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,538	5,932	0,148	0,833	21,862
Crustacea Decapoda NI	2,123	3,390	0,241	0,305	8,011
Crustacea Decapoda Anomura	0,943	1,271	2,255	0,155	4,066
Crustacea Decapoda Brachyura	0,708	1,271	0,516	0,059	1,555
Crustacea Decapoda Natantia	4,717	7,203	11,525	4,458	116,999
Crustacea Decapoda Reptantia	0,236	0,424	0,062	0,005	0,126
Crustacea Stomatopoda	0,236	0,424	0,017	0,004	0,107
Crustacea Amphipoda	1,415	2,542	0,029	0,140	3,672
Crustacea Isopoda	3,066	3,390	1,446	0,583	15,293
Crustacea Euphausiacea	35,849	17,373	7,837	28,918	758,952
Crustacea Mysidacea	18,396	16,525	2,410	13,101	343,826
Crustacea Ostracoda	0,472	0,847	0,000	0,015	0,400
Osteichthyes	10,849	14,831	26,246	20,962	550,131
Chondrichthyes	0,472	0,847	2,787	0,105	2,762
Cnidaria Anthozoa	0,236	0,424	0,144	0,006	0,161
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,708	0,847	0,011	0,023	0,609
Chordata Tunicata	0,236	0,424	0,113	0,006	0,148
Bryozoa	0,236	0,424	0,008	0,004	0,103
Echinodermata Holothuroidea	0,472	0,424	0,379	0,014	0,361
Mollusca Cephalopoda	12,028	15,678	34,264	27,654	725,769
Polychaeta	3,066	5,508	9,564	2,651	69,570

500-800

Preys	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	4,965	5,769	0,110	0,666	29,277
Crustacea Decapoda NI	3,546	9,615	0,214	0,823	36,153
Crustacea Decapoda Anomura	1,418	3,846	1,804	0,282	12,393
Crustacea Decapoda Brachyura	0,709	1,923	0,275	0,043	1,893
Crustacea Decapoda Natantia	0,709	1,923	0,922	0,071	3,137
Crustacea Decapoda Reptantia	0,709	1,923	0,099	0,035	1,554
Crustacea Euphausiacea	21,986	11,538	2,557	6,445	283,186
Crustacea Mysidacea	1,418	1,923	0,099	0,066	2,918
Osteichthyes	12,766	19,231	16,430	12,777	561,455
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,709	1,923	0,006	0,031	1,375
Chordata Tunicata	0,709	1,923	0,181	0,039	1,711
Mollusca Cephalopoda	46,809	28,846	70,937	77,296	3396,500
Mollusca Gasteropoda	0,709	1,923	1,660	0,104	4,556
Polychaeta	2,837	7,692	4,708	1,321	58,034



Tab. 25: Composizione della dieta negli individui di *Scyliorhinus canicula* catturati nella piattaforma e nella scarpata continentale con relativi indici alimentari (%Cn, Indice di abbondanza percentuale; %F, indice di frequenza percentuale, %W, indice di peso percentuale; %I.R.I., Indice di importanza relativa percentuale; I.R.I., Indice di importanza relativa).

Preys	10-200				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	2,270	2,355	0,059	0,247	5,485
Crustacea Decapoda NI	3,204	4,711	0,227	0,729	16,162
Crustacea Decapoda Anomura	14,953	12,848	22,295	21,591	478,568
Crustacea Decapoda Brachyura	0,801	0,857	0,364	0,045	0,998
Crustacea Decapoda Natantia	8,011	9,422	12,210	8,595	190,514
Crustacea Decapoda Reptantia	0,534	0,857	0,087	0,024	0,532
Crustacea Amphipoda	2,670	3,426	0,034	0,418	9,266
Crustacea Isopoda	4,139	3,640	1,217	0,880	19,498
Crustacea Euphausiacea	10,814	5,353	1,475	2,968	65,788
Crustacea Mysidacea	11,749	8,994	0,960	5,157	114,300
Crustacea Ostracoda	0,534	0,428	0,000	0,010	0,229
Crustacea Stomatopoda	0,134	0,214	0,006	0,001	0,030
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	2,537	0,642	0,024	0,074	1,645
Echinodermata Holothuroidea	4,005	2,784	2,009	0,755	16,741
Osteichthyes	13,084	15,846	19,745	23,469	520,206
Mollusca Cephalopoda	8,278	9,636	14,709	9,993	221,503
Mollusca Gasteropoda	0,134	0,214	0,366	0,005	0,107
Polychaeta	11,348	16,488	22,082	24,868	551,203
Sipuncula	0,801	1,285	2,129	0,170	3,765
Preys	200-800				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Crustacea NI	3,929	5,986	0,134	0,856	24,320
Crustacea Decapoda NI	2,500	4,577	0,232	0,440	12,507
Crustacea Decapoda Anomura	1,071	1,761	2,099	0,196	5,582
Crustacea Decapoda Brachyura	0,714	1,408	0,427	0,057	1,607
Crustacea Decapoda Natantia	3,750	6,338	7,510	2,512	71,367
Crustacea Decapoda Reptantia	0,179	0,352	0,038	0,003	0,076
Crustacea Amphipoda	1,071	2,113	0,018	0,081	2,302
Crustacea Isopoda	1,964	2,465	0,759	0,236	6,713
Crustacea Euphausiacea	32,500	16,549	5,824	22,326	634,227
Crustacea Mysidacea	14,286	14,085	1,534	7,843	222,810
Crustacea Ostracoda	0,357	0,704	0,000	0,009	0,252
Crustacea Stomatopoda	0,179	0,352	0,011	0,002	0,067
Cnidaria Anthozoa	0,179	0,352	0,089	0,003	0,094
Cnidaria Hydrozoa Siphonophora	0,714	1,056	0,009	0,027	0,764
Tunicata	0,357	0,704	0,140	0,012	0,350
Bryozoa	0,179	0,352	0,005	0,002	0,065
Echinodermata Holothuroidea	0,357	0,352	0,235	0,007	0,209
Osteichthyes	11,429	15,845	22,661	19,014	540,158
Mollusca Cephalopoda	20,893	17,958	48,782	44,045	1251,211

Preys	200-800				
	%Cn	%F	%W	%IRI	IRI
Polychaeta	3,036	5,986	7,761	2,275	64,630
Chondrichthyes	0,357	0,704	1,730	0,052	1,470

Per una similarità di Bray-Curtis del 40%, la cluster analysis individua unicamente due gruppi: uno costituito unicamente dallo strato batimetrico più profondo ed uno che raggruppa tutte le restanti batimetrie. Per similarità maggiori (60% di Bray-Curtis) vengono invece individuati tre gruppi (Fig. 42). In questo caso, le fasce batimetriche estreme clusterizzano separatamente, mentre il blocco centrale (50-500 metri) costituisce un gruppo a sè, accomunato da una similarità del 68% (Simper test), prevalentemente dovuta al contributo di Teleostei e Selaci.

Le differenze maggiori emergono dal confronto tra la fascia più profonda ed il gruppo 50-500 metri (Aver. Dissimilarity = 74%), e sono imputabili al differente apporto dato da Cefalopodi e gasteropodi. La distanza tra la dieta degli individui delle acque più superficiali e quelli degli strati sottostanti, invece, è legata alla presenza di Molluschi Gasteropodi e Decapodi Anomuri (Aver. Dissimilarity = 49%).

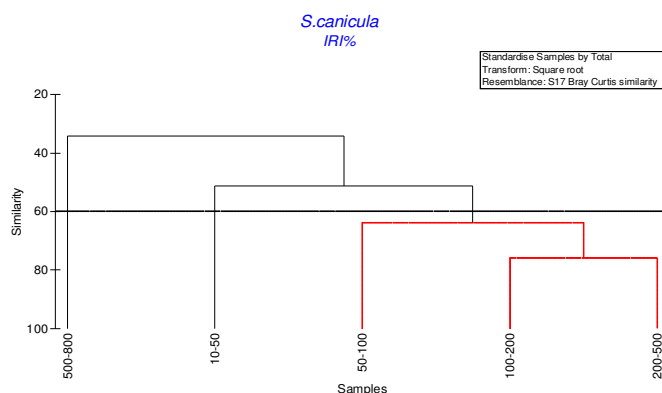


Fig. 42: Dendrogramma per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla profondità di campionamento (%I.R.I.)

La rappresentazione mediante MDS, conferma la suddivisione in tre gruppi scaturita dall'analisi dei cluster e sottolinea, anche graficamente, il distacco che caratterizza la dieta nella fascia batimetrica più profonda (Fig. 43).

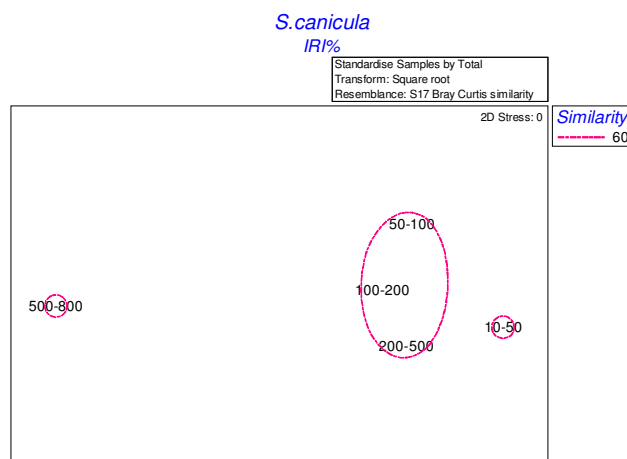


Fig. 43: Rappresentazione MDS per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione all'area di campionamento (%I.R.I.)

Il test di Kruskal-Wallis ( $K-W = 13.11$ ;  $P\text{-value} < 0.05$ ) conferma l'esistenza di differenze statisticamente significative, ascrivibili alle fasce batimetriche 10-50 e 500-800, come indicato dall'applicazione del test a posteriori di Dunn.

Relativamente alla diversità dello spettro trofico, invece, è possibile osservare un andamento crescente all'aumentare della profondità, fino al raggiungimento del valore massimo in corrispondenza della isobata dei 200 metri ( $H' = 2.01$ ), cui successivamente segue un decremento, particolarmente evidente per lo strato oltre i 500 m ( $H' = 0.81$ ). Quando si considerano i valori di  $H'$  relativi ai macrostrati, si rileva unicamente una leggera flessione dei valori di ricchezza specifica relativamente alla profondità (Tab. 26).

Tab. 26: Valori dell'indice di Shannon-Wiener ( $H'$ ) per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla profondità.

Depth	$H'$	Depth	$H'$
10-50	1,01		
50-100	1,47	10-200	1,89
100-200	2,01		
200-500	1,67	200-800	1,50
500-800	0,81		

L'indice di Eveness suggerisce una ripartizione minima delle risorse nello strato più profondo ( $J = 0.30$ ), mentre i valori relativi alle altre fasce sono intermedi ed equiparabili tra loro.

L'ampiezza della dieta è minima in corrispondenza delle batimetrie più profonde, mentre raggiunge valori massimi ai confini della piattaforma continentale (Tab. 27). La bassa sovrapposizione dello spettro trofico riflette l'esistenza di differenze significative tra le diete (Tab. 27).

Tab. 27: Valori dell'indice di Morisita (C) e dell'indice di Levin (Bi) per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla profondità di campionamento (In rosso i valori biologicamente significativi).

	Morisita's Index					Levin Index
	10-50	50-100	100-200	200-500	500-800	
10-50	-	0,361	0,005	0,368	0,860	0,593
50-100	-	-	0,636	0,377	0,255	0,480
100-200	-	-	-	0,852	0,573	0,738
200-500	-	-	-	-	0,635	0,297
500-800	-	-	-	-	-	0,241

Contrariamente a quanto osservato per la variazione della dieta in funzione dei cinque strati batimetrici, nessuna differenza significativa viene evidenziata per il confronto tra i macrostrati (K-S = 0.60; P-value > 0.05) che, infatti, differiscono tra loro solo per il 36% circa (Simper test) (Fig. 44).

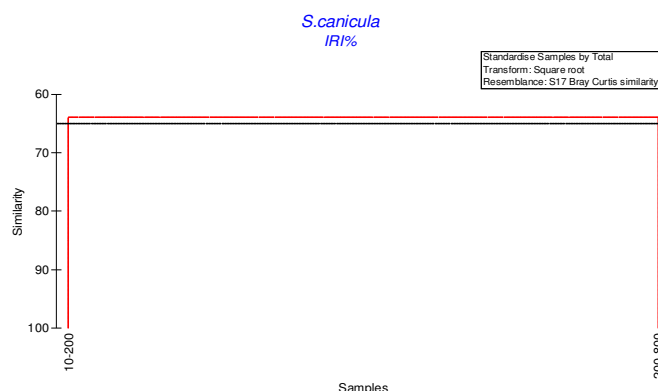


Fig. 44: Dendrogramma per la dieta di *Scyliorhinus canicula* per la piattaforma e la scarpata continentale (%I.R.I.)

La diversità trofica, l'indice di equitabilità e l'ampiezza della dieta sono maggiori per la dieta degli esemplari della piattaforma ( $H' = 1.89$ ;  $J = 0.64$  e  $Bi = 0.69$ ), ma la sovrapposizione delle nicchie è comunque importante e biologicamente significativa ( $C = 0.67$ ).

Infine, il livello trofico tende a diminuire con l'aumento della profondità; il calo è piuttosto vistoso per la dieta degli individui catturati oltre i 200 metri (Tab. 28).

Differenze significative caratterizzano i confronti tra i livelli trofici di tutte le fasce batimetriche considerate, confermando le differenze significative riscontrate con il test di Kruskal-Wallis (Tab. 28).

Il valore di TROPH per la scarpata è maggiore ( $TROPH = 4.03 \pm 0.49$ ), nonostante anche quello per la piattaforma sia elevato ( $TROPH = 3.70 \pm 0.56$ ); i due valori, inoltre, differiscono statisticamente ( $t=8.202$ ; P-value < 0.05).

Tab. 28: Valori del livello trofico (TROPH) ed errore standard (s.e.) per la dieta di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla profondità di campionamento e relativi confronti statistici (in rosso i valori significativi del *t*-test).

	10--50	50-100	100-200	200-500	500-800	TROPH	s.e.
10--50		3,556	2,229	19,877	24,235	4,270	0,537
50-100			4,687	60,212	30,050	3,588	0,534
100-200				67,774	32,298	3,827	0,546
200-500					10,074	0,546	0,516
500-800						1,298	0,281

## Discussione

L'analisi della dieta ha evidenziato notevoli differenze nel comportamento alimentare delle due specie, rappresentate prevalentemente dalla tipologia di prede selezionate, e dalle proporzioni con cui queste vengono consumate durante tutto il ciclo vitale. Tali differenze si riflettono anche sul livello trofico proprio di ognuna delle specie, che appare leggermente superiore per il gattuccio.

Differenze marcate riguardano la percentuale di stomaci vuoti, decisamente maggiore per *M. merluccius*. L'elevato valore dell'indice di vacuità ed il notevole numero di stomaci estroflessi, sono, infatti, caratteristiche frequenti in questa specie (Du Buit, 1996) e suggeriscono un feeding rate basso, proprio della stagione estiva ed autunnale in cui sono stati condotti i campionamenti, come precedentemente osservato per il Mar Mediterraneo da Papaconstantinou e Stergiou (1995) e da Cartes et al. (2009).

La percentuale di stomaci vuoti in *S. canicula* è piuttosto bassa ed in accordo con i dati presenti in letteratura (Olaso et al., 1998, 2005; Rodriguez-Cabello et al., 2007).

L'indice di vacuità non pare essere influenzato dal sesso in ambo le specie, mentre sembra variare in relazione alla taglia. In *S. canicula* è possibile evidenziare un incremento della percentuale di stomaci vuoti all'aumentare delle dimensioni corporee, probabilmente imputabile alle differenze nella dimensione della cavità boccale, che negli individui piccoli favorisce la cattura di piccoli Crostacei che vengono digeriti in tempi maggiori rispetto ad altri taxa (Olaso et al., 1998, 2005). In *M. merluccius*, invece, una maggiore proporzione di stomaci vuoti è caratteristica degli individui adulti e sembra essere legata ad una maggiore facilità di rigurgito di prede dimensionalmente più importanti nonché ad una migliore capacità di estensione dell'esofago caratteristica degli individui adulti (Bowen, 1983).

Il numero di stomaci contenenti cibo in funzione dello stadio riproduttivo raggiunge valori massimi negli individui maturi di *M. merluccius*, come osservato da Velasco and Olaso (1998) per il Mar Cantabrico. Secondo gli autori, infatti, un minor feeding rate sarebbe associato al picco massimo riproduttivo.

Infine, un comportamento analogo accomuna le due specie quando si analizza la relazione tra la percentuale di stomaci vuoti e la profondità. In ambo i casi si osserva un decremento dei valori dell'indice di vacuità all'aumentare della profondità, decremento che appare molto più marcato per *S. canicula*.

La dieta di ambo le specie è dominata da poche categorie di prede, il numero di taxa consumati da *S. canicula* però è nettamente maggiore rispetto a quello caratteristico di *M. merluccius*, in virtù delle abitudini alimentari proprie del gattuccio, considerato un consumatore opportunista ed uno scavenger



(Capapè, 1974; Jardas, 1979; Lyle, 1981; Kaiser and Spencer, 1994; Olaso and Rodriguez-Marin, 1995; Olaso et al., 1998, 2005; Sims et al., 2001).

In *M. merluccius* la dieta è costituita prevalentemente da Teleostei ed Eufausiacei, e da una serie di prede secondarie ed occasionali, la cui abbondanza ed importanza variano notevolmente in funzione di numerosi fattori, tra cui taglia, distribuzione batimetrica e localizzazione geografica come riportato da Velasco and Olaso (1998), Carpentieri et al. (2005) e Cartes et al. (2009).

Nel gattuccio, invece, la dieta è composta principalmente da Crostacei e Teleostei, ma anche da Policheti e Molluschi Cefalopodi. Anche per questa specie le variazioni maggiori sono legate all'accrescimento ed alla differente distribuzione batimetrica e geografica.

Come emerso da studi precedenti (Carpentieri et al., 2005; Rodriguez-Cabello et al., 2007) nessuna differenza sostanziale emerge dal confronto della dieta per sessi nelle due specie. Tuttavia, nel corso della nostra analisi si sono evidenziate alcune piccole differenze senza significato statistico riguardanti l'abbondanza delle diverse categorie di prede sfruttate dai maschi e dalle femmine.

I Teleostei rivestono maggiore importanza nella dieta delle femmine di *M. merluccius*, probabilmente perché queste presentano un tasso di accrescimento più rapido rispetto ai maschi e raggiungono, pertanto, taglie maggiori, notoriamente associate ad un consumo più spinto di Teleostei (Papaconstantinou and Stergiou, 1995; Du Buit, 1996; Carpentieri et al., 2005), in tempi più brevi.

Analogamente, le femmine di *S. canicula* consumano quantità maggiori di Teleostei rispetto ai maschi, che, al contrario, prediligono i Crostacei Decapodi. Tutte le altre categorie di prede presentano abbondanze ed importanze paragonabili in ambo i sessi. La dieta dei maschi, inoltre, è caratterizzata da una maggiore varietà di prede giustificabile dal dimorfismo dimensionale che contraddistingue i due sessi nel gattuccio, in cui i maschi raggiungono dimensioni maggiori, essendo di conseguenza in grado di sfruttare un maggior numero di prede (Olaso et al., 1998; Rodriguez-Cabello et al., 2007).

L'accrescimento produce un graduale ma continuo cambiamento sia quantitativo che qualitativo della dieta che induce un aumento del livello trofico in entrambe le specie.

Per il nasello si osserva un incremento del peso medio delle prede e una diminuzione del numero medio di categorie di prede per stomaco con l'incremento delle dimensioni, mentre in *S. canicula* si osserva un aumento del numero medio di prede per stomaco.

La dieta degli individui più piccoli di entrambe le specie è dominata dagli Eufausiacei. Questi, infatti, costituiscono una tipologia di prede abbondante, soprattutto durante la notte, nelle fasce batimetriche superficiali (Cartes et al., 2009) in cui sono soliti raggrupparsi i giovanili di gattuccio (Olaso and Rodriguez-Marin, 1995; Olaso et al., 2005; Rodriguez-Cabello et al., 2007) e di nasello (Bozzano and Catalàn, 2002; Carpentieri et al., 2005).

L'importanza degli Eufausiacei decresce all'aumentare delle dimensioni, in corrispondenza di variazioni ontogenetiche notevoli che interessano entrambe le specie. Lombarte e Popper (1994) hanno descritto dettagliatamente i cambiamenti a carico della vista e dell'olfatto cui sono soggetti i giovanili di nasello, soprattutto durante il primo anno di vita (Bozzano and Catalàn, 2002), affermando che tali cambiamenti sono in grado di produrre mutamenti nelle abitudini alimentari della specie (Bozzano et al., 2005). L'incremento nella capacità sensoriale, infatti, permetterebbe agli individui di *M. merluccius* di esplorare la colonna d'acqua, ampliando così la gamma di organismi predabili (Bozzano et al., 2005). Allo stesso modo, l'accrescimento induce variazioni nella percezione visiva ed olfattiva in *S. canicula*, quali una maggiore acutezza visiva ed una migliorata elettroricezione, che permetterebbero l'ampliamento dello spettro trofico del gattuccio, grazie anche all'inclusione dello scavenging tra i comportamenti abituali (Kaiser and Spencer, 1994; Olaso et al., 1998, 2002; Bozzano et al., 2001).

Le classi di taglia medio-grandi sono caratterizzate da una maggiore presenza di Teleostei in *M. merluccius* e di Crostacei Decapodi e Molluschi Cefalopodi in *S. canicula*, in accordo con quanto riportato da altri autori per il bacino Mediterraneo (Du Buit, 1996; Carpentieri et al., 2005; Olaso et al., 2005).

Inoltre, una notevole somiglianza caratterizza la diversità trofica e l'ampiezza di nicchia della dieta degli individui di taglia media e grande in *M. merluccius*, come risulta anche evidente dalle informazioni forniteci dai test utilizzati per lo studio dello spettro trofico (H', Indice di Shannon-Wiener; J, Indice di Evenness; Bi, Indice di Levin). Tale attinenza potrebbe essere dovuta alla coincidenza nella distribuzione batimetrica delle due classi di taglia, che raggruppano individui con manifesta tendenza ad occupare acque più profonde (oltre i 200 m) (Bozzano et al., 2005).

Al contrario per *S. canicula* le maggiori affinità tra gli spettri trofici in funzione della taglia vengono riscontrate tra gli individui piccoli e medi. In questo caso è necessario tener conto della differente segregazione sessuale che caratterizza la specie e che porta le femmine ad occupare habitats più adatti allo spawning (Rodriguez-Cabello et al., 2007), spesso coincidenti con le acque più superficiali, e del dimorfismo sessuale precedentemente descritto, per cui le femmine hanno, complessivamente, dimensioni inferiori rispetto ai maschi (Olaso et al., 1998; Rodriguez-Cabello et al., 2007).

Per entrambe le specie non emergono relazioni tra lo stadio del ciclo riproduttivo dell'individuo e le sue abitudini alimentari. Tuttavia, è possibile osservare una leggera flessione del feeding rate negli individui maturi di *M. merluccius*, dovuta, secondo Velasco e Olaso (1998), ad una diminuzione del feeding rate durante il periodo riproduttivo.

Come osservato da numerosi autori (Papaconstantinou and Stergiou, 1995; Velasco and Olaso, 1998; Cartes et al., 2009), la dieta varia notevolmente in funzione delle variazioni nella disponibilità ed

abbondanza delle diverse categorie di prede in una data area. Ciononostante, il coefficiente di variazione relativo al TROPH presenta valori bassi per entrambe le specie, suggerendo, quindi, variazioni minime nella posizione occupata nelle reti trofiche nelle diverse aree geografiche. Questo risultato sembrerebbe indicare che entrambe le specie sono in grado di adattarsi all'assenza e/o alla scarsità delle prede "abituali", consumando altre categorie di prede, equiparabili dal punto di vista del livello trofico.

Contrariamente a quanto osservato per la localizzazione geografica, l'analisi della dieta in funzione della profondità ha permesso di evidenziare un trend ben definito: piattaforma e scarpata continentale, infatti, si distinguono nettamente per la tipologia di prede.

Gli Eufausiacei dominano la dieta del nasello nella piattaforma continentale, mentre l'abbondanza di questo taxon nella dieta di *S. canicula* è maggiore per gli esemplari provenienti dalla scarpata continentale. Lo stesso andamento viene evidenziato in *S. canicula* per i Teleostei i quali, invece, costituiscono la categoria dominante nella dieta del nasello catturato nella scarpata continentale. La dieta degli individui di *M. merluccius* che predano nella scarpata è caratterizzata, inoltre, dall'incremento della presenza ed importanza di Decapodi Natanti, Misidacei e Molluschi Cefalopodi. Ne consegue che la ricchezza specifica dello spettro trofico, l'ampiezza della dieta ed il livello trofico medio di *M. merluccius* si accrescono all'aumentare della profondità, raggiungendo livelli massimi nella fascia più profonda, ove sono soliti radunarsi gli esemplari di nasello adulti e quindi di dimensioni maggiori (Du Buit, 1996). Al contrario, ampiezza, diversità e livello trofico sono massimi nel gattuccio per le fasce batimetriche superficiali, in cui è più ampia la disponibilità di prede a disposizione della specie.

Concludendo, quindi, numerosi fattori sembrano interagire con le dinamiche alimentari di entrambe le specie. Tra questi, il ruolo dell'accrescimento e delle variazioni ontogenetiche probabilmente rappresentano il fattore più importante nella diversificazione della dieta. A questo si aggiungono cambiamenti nel comportamento durante il periodo riproduttivo, come la riduzione del ritmo alimentare in *M. merluccius* o la differente segregazione batimetrica nei sessi per *S. canicula*.

Infine, notevoli variazioni nella dieta sono imputabili a differenze nella disponibilità ed abbondanza delle prede, sia in termini di distribuzione geografica che in termini di ripartizione batimetrica.

## ANALISI DEL TENORE DEGLI ELEMENTI IN TRACCIA

### Introduzione

Gli elementi in traccia, siano essi di origine naturale o antropica, sono diffusi in tutti gli ecosistemi mondiali (Kojadinovic et al., 2007). Data la loro elevata persistenza e affinità coi tessuti biologici (Mishra et al., 2007), spesso vengono accumulati lungo la catena trofica, fino a raggiungere concentrazioni massime nelle specie predatrici (Bacci and Gaggi, 1998; Sandor et al., 2001).

Le reti trofiche degli ecosistemi acquatici sono particolarmente soggette a fenomeni di arricchimento degli elementi in traccia (Bargagli et al., 1998), sia perché caratterizzate da una elevata strutturazione (Mearns et al., 1981), sia in quanto interessate da un flusso pressoché costante di metalli pesanti, immessi, depositati o stoccati nei sedimenti e rilasciati in seguito a fenomeni perturbativi di origine naturale ed antropica (Barron, 1995; Burger et al., 2001; Bottos et al., 2005).

Gli organismi marini, pertanto, subiscono spesso fenomeni di arricchimento, reversibili o irreversibili, durante i processi di scambio di materia ed energia con l'ambiente (Bacci and Gaggi, 1998). L'entità e la velocità con cui questi avvengono sono dipendenti dalle proprietà fisico-chimiche del metallo, dalla durata e dalla via di esposizione, e dai meccanismi di eliminazione che vengono attuati da molti organismi acquatici nel tentativo di mantenere il tenore dei metalli pesanti nel corpo entro livelli normali (Bacci and Gaggi, 1998; Sandor et al., 2001).

Generalmente, gli organismi a vita breve sono meno soggetti a fenomeni di arricchimento, mentre gli organismi superiori a vita lunga possono andare incontro a diverse tipologie di arricchimento, indicate con i termini di bioconcentrazione, bioaccumulo e biomagnificazione (Bacci and Gaggi, 1998).

Per bioconcentrazione si intende l'insieme di processi attraverso cui si ha l'accumulo di una sostanza attraverso le stesse superfici che permettono gli scambi respiratori (polmoni, branchie, trachee). Con il termine bioaccumulo, invece, si indica l'arricchimento di una sostanza negli organismi viventi, i cui principali siti di accumulo sono capelli e peli, fegato, polmoni, ossa, reni e tessuto adiposo, attraverso tutte le vie di esposizione possibili (respiratoria, alimentare, e dermica).

Nella biomagnificazione, infine, l'unica via di esposizione è quella alimentare, di conseguenza, la concentrazione del metallo nei tessuti cresce all'aumentare del livello trofico degli organismi (Bacci and Gaggi, 1998).

Quest'ultimo fenomeno interessa prevalentemente mercurio, cadmio e piombo (Bargagli et al., 1998; Melntyre and Beauchamp, 2007; Kubawara et al., 2007; Kasper et al., 2009) che, oltre ad essere

estremamente tossici (Gaspic et al., 2002; Canli and Atli, 2003; Dierking et al., 2009), vengono facilmente trasportati su lungo raggio, dando luogo a fenomeni di biomagnificazione in zone remote ed incontaminate (Bargagli et al., 1998; Evans et al., 2000).

Per questo motivo sono stati inseriti come contaminanti prioritari in diverse convenzioni internazionali e protocolli per la prevenzione dell'inquinamento ambientale e la riduzione del rischio di esposizione per l'uomo (Pacyna et al., 2009).

Queste convenzioni includono la "UN Commissione Economica per l'Europa (ECE) – Contaminanti Atmosferici con Trasporto a Lungo Raggio - LRTAP" (EMEP, 2006), la convenzione "OSPAR" (OSPAR, 2006), e la convenzione "HELCOM" (HELCOM, 2006).

## Mercurio

Tra i metalli pesanti, è il mercurio a destare maggiori preoccupazioni per i noti effetti tossici, conosciuti da tempo e ben documentati (Zook et al., 1976; Friberg, 1991; Plessi et al., 2001), che esplica su tutti gli organismi viventi (Eisler, 1987), ed in particolar modo sull'uomo (Marcotrigiano and Storelli, 2003; Burger and Gochfeld, 2004, 2005; Burger et al., 2005).

Casi di inquinamento localizzato molto importanti, uno tra tutti quello verificatosi a Minamata (Giappone) nella prima metà del 1900, da cui prende il nome la sindrome neurologica dovuta ad intossicazione acuta di mercurio, si sono ripetuti nell'ultimo secolo, a causa dell'incremento dei quantitativi di mercurio liberati nell'atmosfera e nell'idrosfera, conseguentemente all'attività dell'uomo (Hobman et al., 2000).

Prima della rivoluzione industriale, infatti, l'uso di mercurio su larga scala si limitava all'utilizzo nell'estrazione e raffinazione di oro e argento (Hobman et al., 2000), mentre in seguito all'avvento delle macchine a motore, quantitativi sempre crescenti di mercurio sono stati immessi in ambiente. Molti composti organo-mercurici di nuova sintesi, infatti, vengono utilizzati in svariate applicazioni (Friberg, 1991), altri sono stati banditi o sostituiti da prodotti meno tossici in tempi recenti in seguito all'introduzione di normative più rigide (Friberg, 1991; Hobman et al., 2000).

Alla luce di tutto ciò, soprattutto nell'ultimo trentennio, sono stati compiuti considerevoli investimenti nella ricerca e nell'implementazione di progetti (MAMCS, MERCYMS, EMECAP, e ESPREME), volti ad incrementare le conoscenze circa le sorgenti, i flussi, il comportamento ed il complesso ciclo biogeochimico del mercurio (Hobman et al., 2000; Pacyna et al., 2006).

Il ciclo del mercurio, infatti, presenta numerose componenti biotiche, abiotiche e svariati punti critici (Fitzgerald and Mason, 1997; Schroeder and Munthe, 1998). Uno di questi riguarda la sua speciazione, capace di influenzarne la reattività chimica e biologica, il trasporto ed il tempo di residenza in ambiente (Hobman et al., 2000).

Rispetto ad altri inquinanti, infatti, il mercurio presenta una maggiore facilità di dispersione in relazione alla sua elevata volatilità (Lindqvist et al., 1991; Mason et al., 1994; Lamborg et al., 2002) e resistenza alla condensazione (Pacyna et al., 2006), essendo, pertanto, soggetto a fenomeni di trasporto su lungo raggio, come dimostrato dal rinvenimento di elevate concentrazioni in regioni molto remote del pianeta (Bargagli et al., 1998; Wängberg et al., 2001). Per questo motivo è stato inserito, assieme a cadmio e piombo, all'interno di un protocollo per il controllo delle emissioni, facente parte delle linee guida della Convenzione sul Trasporto a lungo raggio dei Contaminanti Atmosferici UN-ECE (UN-ECE, 1998).

In atmosfera può rinvenirsi in tre forme chimiche con differenti comportamenti e vita media (Wängberg et al., 2001): il mercurio metallico o  $Hg^0$ , il mercurio divalente gassoso o  $Hg(II)$ , ed il mercurio adeso a materiale particolato [ $Hg(p)$ ] (Hobman et al., 2000).

Il mercurio metallico rappresenta la forma più stabile (vita media di circa 0.5-2 anni) spesso interessata a distribuzione su scala globale (Wängberg et al., 2001). È meno tossico rispetto alle sue forme ossidate, in quanto meno solubile, però viene facilmente trasformato mediante ossidazione enzimatica in composti piuttosto tossici in vivo (Hobman et al., 2000). Il mercurio divalente gassoso ed il materiale particolato, invece, tendono a depositare più rapidamente sia su scala locale che regionale, mediante deposizione secca o umida (Wängberg et al., 2001).

#### *Emissioni globali ed europee di mercurio.*

Le emissioni globali in atmosfera sono quantificate in circa 6.1 milioni di chilogrammi annui (Nriagu, 1989); di questi, circa il 30% è ascrivibile a fonti antropogeniche, rappresentate prevalentemente da combustioni industriali e casalinghe (Cossa et al., 1990; Hobman et al., 2000). L'uso di combustibili fossili, infatti, è ritenuto da molti come il responsabile principale dell'incremento nelle emissioni di metalli pesanti in atmosfera durante il ventesimo secolo (Murozumi et al., 1969; Shirahata et al., 1980; Nriagu and Pacyna, 1988). Il mercurio, inoltre, viene largamente utilizzato nella produzione di cloroalcali (Hobman et al., 2000), mediante il processo a cellule di mercurio, nella produzione di batterie primarie, di strumenti di controllo e misura, di strutture per l'illuminazione, di impianti e interruttori elettrici (Pacyna et al., 2006).

Nonostante l'ultimo ventennio sia stato caratterizzato da un decremento nelle emissioni, in seguito all'implementazione di filtri e sistemi di controllo (ESP e FGD) che hanno ridotto gli apporti derivanti da scarichi e combustione industriali, poco è stato fatto per controllare le emissioni domestiche, spesso molto più inquinanti in quanto prodotte dalla combustione di combustibili di scarsa qualità (Pacyna et al., 2006).

Le emissioni in atmosfera, pertanto, risultano ancora consistenti e sono 10 volte maggiori rispetto agli inputs in ambienti acquatici. Questo, unitamente alla complessità dei fenomeni di trasporto del mercurio atmosferico (Mason et al., 1994; Pacyna and Keeler, 1995; Pirrone et al., 2001), contribuisce alla difficoltà nella valutazione della contaminazione su larga scala (Hylander, 2001). Nonostante esista un accordo di massima circa l'ammontare globale delle emissioni di mercurio da fonti naturali (~1000-3000 Mg/anno) (Nriagu, 1989; Lindqvist et al., 1991; Mason et al., 1994; Seigneur et al., 2001; Lamborg et al., 2002), il contributo vulcanico non è ancora ben definito (Zambardi et al., 2009). Data la varietà degli eventi vulcanici, le stime circa le emissioni spaziano da 1 a 800 t/anno (Ferrara et al., 2000; Varekamp and Busek, 1986; Nriagu and Becker, 2003; Pyle and Mather, 2003).

Il contributo europeo alle emissioni antropogeniche globali appare piuttosto limitato, e stimato in circa 240 tonnellate/annue (Pacyna et al., 2006) (Fig. 43), mentre l'ammontare delle emissioni naturali europee sarebbe pari a circa 177 tonnellate/annue (Pacyna et al., 2006).

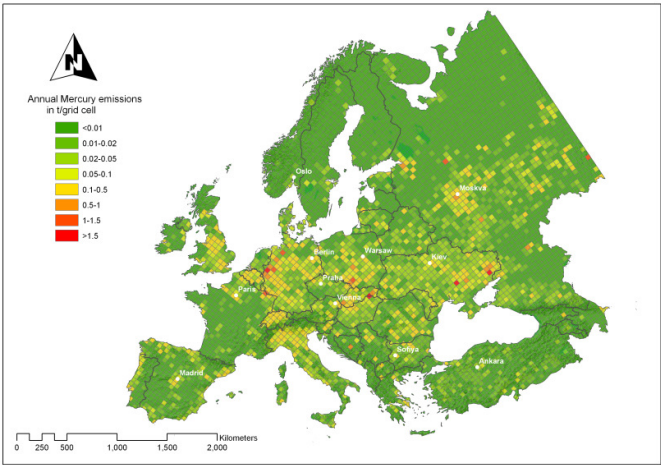


Fig. 45: Emissioni europee annuali di mercurio (EU-ESPreme Project, 2010)

Le emissioni maggiori sul territorio europeo vengono attribuite alla porzione europea della Russia, che contribuisce con circa il 27% delle emissioni totali, mentre l'Italia si piazza al settimo posto di questa particolare classifica (Pacyna et al., 2006) (Tab. 29).

Tab. 29: Emissioni di mercurio totale e suoi composti derivanti da fonti antropogeniche nelle 10 nazioni Europee con le emissioni maggiori (tonnellate/anno) (EUSPREME, 2010).

Nazione	THg (tonnellate/anno)
Federazione Russa (Europa)	66,10
Polonia	25,60
Germania	23,40
Spagna	23,00
Francia	15,00
Ucraina	10,29
Italia	9,78
Regno Unito	8,54
Yugoslavia	7,09
Romania	5,00
Totale	193,80



Le concentrazioni di mercurio atmosferico nell'area mediterranea, invece, sono più consistenti rispetto a quanto osservato in Europa (Pirrone et al., 2001; Wängberg et al., 2001), in relazione alle caratteristiche climatiche e geologiche tipiche del bacino Mediterraneo (Ferrara et al., 2000).

Nel mar Mediterraneo i tassi di emissione di mercurio per evaporazione dalla superficie marina variano tra 0.7 e 10.1 ng/m<sup>2</sup>/h nelle zone non contaminate, mentre raggiungono i 2.4-11.25 ng/m<sup>2</sup>/h nelle zone costiere contaminate. Il mare aperto presenta tassi di emissione inferiori (1.16-2.5 ng/m<sup>2</sup>/h) ed una minore variabilità delle concentrazioni diurne/notturne (Pirrone et al., 2001). Fatte queste considerazioni e tenendo conto della variazione del tasso medio di volatilizzazione tra il periodo estivo ed invernale (4 ng/m<sup>2</sup>/h e 1.5 ng/m<sup>2</sup>/h rispettivamente) e dell'area di superficie totale del bacino Mediterraneo, pari a  $2.6 \times 10^6$  km<sup>2</sup>, è possibile stimare un flusso di mercurio proveniente dalla sola volatilizzazione del bacino Mediterraneo pari a 110 tonnellate annue rilasciate in atmosfera (Pirrone et al., 2001). Stime globali attestano in 400 Mg/anno le emissioni derivanti dal degassamento degli oceani (Zambardi et al., 2009).

L'area mediterranea è, inoltre, ricca di zone di deposito di cinabro (HgS) molto importanti a livello globale (Loppi, 2001). Monte Amiata in Toscana fa parte della cosiddetta cintura Mediterraneo-Tetiana (Mediterranean-Tethyan belt), una delle aree più mobili della terra, in cui si rinviene circa il 65% delle risorse di mercurio mondiale (Nriagu, 1979). Nella sola località di Monte Amiata, sfruttata fino agli anni settanta per l'estrazione di mercurio, la cui lavorazione avveniva in situ, le attività estrattive dell'ultimo trentennio hanno prodotto l'emissione di 8000 t di mercurio in atmosfera (Bacci, 1995).

Inoltre, il Mediterraneo è una tra le aree maggiormente interessate dai fenomeni vulcanici; la presenza di vulcani persistenti attivi come l'Etna può giocare un ruolo molto importante a livello regionale e globale (Pyle and Mather, 2003; Nriagu and Becker, 2003), nonostante le emissioni dovute all'attività di vulcani attivi nel sud Italia non costituiscano una fonte significativa di mercurio nel bacino Mediterraneo (Ferrara et al., 2000).

### *Mercurio in ambiente acquatico*

In ambiente marino, il mercurio arriva in seguito all'erosione della crosta terrestre ed al dilavamento dei sedimenti, dove è naturalmente presente sotto forma di sali di solfuro o di cinabro (HgS) (Hobman et al., 2000), o per immissione diretta da fonti antropogeniche, o in seguito a deposizione secca o umida dopo l'emissione in atmosfera.

Una volta immesso in ambiente marino, il mercurio viene trasformato da microorganismi presenti nei sedimenti in forme organiche (Kojadinovic et al., 2007; Chouvelon et al., 2009). Il metilmercurio è la

principale forma organica, caratterizzata da una elevata stabilità e (Hobman et al., 2000) tossicità per gli organismi (WHO, 1990; Storelli et al., 2005) (Fig. 46).

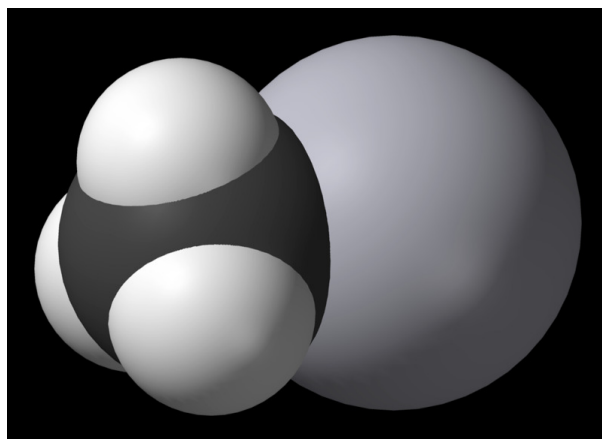


Figura 46: Formula chimica e modello tridimensionale del Metilmercurio (MMHg)

Il metilmercurio viene facilmente accumulato e biomagnificato lungo la catena trofica (Pyle and Mather, 2003; Kojadinovic et al., 2007). Di conseguenza gli organismi marini sono maggiormente soggetti alla biomagnificazione di metilmercurio (Hobman et al., 2000), la cui concentrazioni nelle carni può essere anche 100000 volte superiore a quella del mezzo (WHO, 1990).

Il consumo di pesce, pertanto, rappresenta la via di esposizione elitaria per l'approvvigionamento di mercurio nella popolazione umana non esposta professionalmente (Plessi et al., 2001; Storelli et al., 2005a). Studi recenti affermano che il 90-100% circa del mercurio presente nella porzione edibile del pescato si trovi sottoforma di metilmercurio (Bloom, 1992), altamente biodisponibile per i predatori e per i consumatori finali.

È stato, infatti, dimostrato che la concentrazione di metilmercurio nei vertebrati è principalmente influenzata dalla quantità di metilmercurio biodisponibile alla base rete trofica e dal livello trofico della specie considerata (Hobman et al., 2000).

La tossicità del mercurio è dovuta alla capacità dei suoi composti di superare la barriera costituita dalle membrane biologiche e di legarsi con estrema efficacia ai gruppi tiolici ed imminici degli enzimi (Niebor and Richardson, 1980). La conseguenza di queste interazioni è rappresentata dall'assorbimento di mercurio da parte delle cellule, con conseguente danneggiamento delle membrane cellulari ed inattivazione di molti enzimi. Il tasso di assorbimento e gli organi target per i differenti composti di mercurio variano in funzione delle caratteristiche chimiche e delle interazioni biologiche del metallo e dei suoi derivati organici ed inorganici (Hobman et al., 2000).

L'alta affinità del metilmercurio con il sistema nervoso centrale, l'elevata solubilità lipidica, il tasso di assorbimento cellulare piuttosto spinto ed un tempo di residenza nei tessuti biologici molto lungo (De

Pinho et al., 2002), fanno sì che venga bioaccumulato e biomagnificato con estrema facilità (Hobman et al., 2000) rendendolo un agente neurotossico molto efficace (Storelli et al., 2005).

#### *Riduzione microbica del mercurio*

La riduzione microbica del mercurio è un complesso meccanismo di detossificazione di composti mercuriosi. Le trasformazioni batteriche dei composti di mercurio (metilazione di  $Hg^0$ , demetilazione di MMHg, demetilazione ossidativa di MMHg, riduzione di  $Hg^{2+}$ ) costituiscono una parte importante del ciclo biogeochimico del mercurio (Hobman et al., 2000).

L'affinità del mercurio per i gruppi funzionali tiolici ed imminici nelle proteine preclude alcune delle principali strategie usate da microrganismi per eliminare metalli tossici (Rouch et al., 1995); tuttavia, esistono ceppi batterici in grado di accrescersi in presenza di crescenti concentrazioni di mercurio, grazie alla presenza di operoni dotati di specifici sistemi regolatori per l'espressione genica (Hobman and Brown, 1997; Osborn et al., 1997). La riduzione, dovuta all'espressione di geni appartenenti all'operone *mer reductive resistance*, avviene con l'attivazione selettiva di gruppi distinti di geni, a spettro ampio o ristretto, dipendentemente dal tipo di composti di mercurio presenti.

I geni per lo spettro ristretto conferiscono resistenza ai cationi inorganici mediante la riduzione di  $Hg^0$ , ed in alcuni casi a composti organici del mercurio mediante un meccanismo ancora sconosciuto (Weiss et al., 1978).

La metilazione biologica avviene ad opera di un'ampia gamma di batteri mediante trasferimento di un carbanione ( $CH_3^-$ ) prelevato ad una metilcobalamina al  $Hg(II)$  (Baldi, 1997). In ambiente anaerobico la metilazione avviene ad opera di batteri solforiduttori e viene inibita da elevate concentrazioni di solfato.

Altri meccanismi implicano la riduzione della permeabilità cellulare per il mercurio, già osservata in *Enterobacter aerogenes* (Pan-Hou et al., 1981), la degradazione di metilmercurio mediante la produzione di prodotti metabolici altamente reattivi, come nel caso di *Desulfovibrio desulfuricans* e *Clostridium clochlearum* (Pan-Hou et al., 1980); ed una serie di reazioni minori di cui però sono sconosciuti i meccanismi (Baldi, 1997).

Esistono notevoli affinità nei meccanismi di detossificazione operati da batteri gram-negativi e gram-positivi: in ambo i casi il meccanismo implica il trasporto di ioni di mercurio mediante proteine nel citoplasma e l'intervento successivo di una mercurio reduttasi (MR).

La proteina dimerica MerR regola l'espressione strutturale dei geni dell'operone *mer* adibiti al trasporto ed alla riduzione. MerR si lega con la RNA polimerasi a formare un complesso e funziona sia come promotore della trascrizione in presenza di ioni mercurici, sia come repressore dell'espressione genetica in loro assenza (O'Halloran, 1993; Osborn et al., 1997; Summers, 1992).

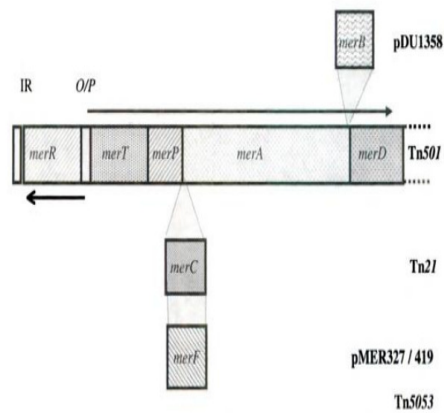


Figura 47: Organizzazione generale degli operoni *mer* nei batteri gram-

MerR funziona come un interruttore biologico molto sensibile in presenza di Hg(II) (Rouch et al., 1995), oltre a legarsi ad Hg(II) la proteina subisce una modifica conformazionale che produce una distorsione del promotore della *mer* rendendolo riconoscibile dalla sub unità della RNA polimerasi, la quale induce così la formazione del complesso attivo per la trascrizione (Ansari et al., 1995 a, 1995b). L' mRNA policistronico sintetizzato dal promotore codifica per le proteine deputate al trasporto ed alla riduzione (Hobman et al., 2000).

Esistono poche strategie artificiali per la rimozione dei metalli tossici da un ambiente contaminato; tutte dipendono fortemente dal tipo di matrice, dal metodo di recupero del mercurio rimosso, e dalla forma chimica in cui il mercurio si trova. Alcune si basano sull'assorbimento gas-liquido ad opera della biomassa microbica (Eccles, 1995; Volesky and Holan, 1995) o funzionano tramite sistemi di resine a scambio ionico (Ritter and Bibler, 1992). Entrambi i metodi mancano in specificità di assorbimento in presenza di ioni metallici competitori, ed inoltre, sono notevoli le influenze dovute alle variazioni di pH e flusso ionico, nonché alla presenza di agenti chelanti.

## Cadmio

Il cadmio è un elemento naturale, presente nella crosta terrestre e negli ecosistemi marini sottoforma di più di 30 differenti isotopi (Lekhi, 2002). Il crescente utilizzo del cadmio nei processi industriali ha recentemente destato notevoli preoccupazioni legate al potenziale rischio per la salute dell'uomo, soprattutto in relazione all'abbondante diffusione di questo elemento in ambiente (Pocock et al., 1988; Schuhmacher et al., 1990). In virtù della sua tossicità, infatti, il cadmio è inserito come sostanza prioritaria in numerosi regolamenti internazionali per la prevenzione dell'inquinamento (Reg. EC 1907/2006; Restriction of Hazardous Substances (RoHS) Directive ) (Ettajani et al., 2001).

L'attività vulcanica rappresenta la principale sorgente naturale di cadmio: le emissioni di questa origine, stimate in circa mille tonnellate annue (Nriagu, 1980), vengono comunque ritenute trascurabili rispetto a quelle antropogeniche.

Il flusso globale antropogenico, quantificato in circa settemila tonnellate/annue (Cossa and Lassus, 1988), è dovuto principalmente all'industria metallurgica (70%). Incenerimento dei rifiuti solidi urbani, fabbricazione di fertilizzanti ed altre attività minori quali produzione di vernici e batterie, produzione di plastica, e catalizzazione di pesticidi, costituiscono congiuntamente il 30% della restante produzione globale annuale (Nriagu, 1980). Valutazioni attendibili dei flussi globali, tuttavia, sono difficili da realizzare a causa dell'eterogeneità nella distribuzione atmosferica di questo elemento, fortemente influenzata dall'emivita molto breve che caratterizza la principale forma chimica con cui il cadmio viene riscontrato in atmosfera (Nakhle, 2003) e da fattori meteorologici, quali precipitazioni e vento (Buat-Menard and Duce, 1986).

Le emissioni in Europa sono quantificate in circa 500 tonnellate annue: di queste circa il 25% derivano dalla Federazione russa (Tab. 30). Il territorio italiano produce circa un terzo delle emissioni totali europee.

Tab. 30: Emissioni di cadmio e suoi composti derivati da fonti antropogeniche nelle 10 nazioni Europee con le emissioni maggiori (tonnellate/anno) (ESPREME, 2010).

Nazione	Cd (tonnellate/anno)
Federazione Russa (Europa)	109,64
Germania	66,33
<b>Italia</b>	<b>55,24</b>
Francia	42,31
Polonia	39,43
Regno Unito	36,14
Ucraina	33,7
Spagna	33,01
Turchia	26,67
Romania	13,76
<b>TOTALE</b>	<b>456,23</b>

Negli ecosistemi acquatici il cadmio è considerato uno dei metalli pesanti più contaminanti (Ketchum et al., 1975; Anderson, 1978; Martinic et al., 1984; Schuhmacher et al., 1990), può rinvenirsi sottoforma disciolta, solitamente a formare cloro complessi regolati dalla salinità, o in forma particolata (Lekhi, 2002), adsorbito a particelle colloidali organiche o minerali (Florence et al., 1992).

Nonostante recenti studi abbiano dimostrato una influenza positiva del cadmio nell'accrescimento di alcune specie fitoplanctoniche, soprattutto in condizioni di limitata disponibilità di zinco (Lee and Morel, 1995; Cullen et al., 1999; Lane and Morel, 2000), non sono noti effetti benefici per gli organismi superiori (Lekhi, 2002; Canli and Atli, 2003).

L'elevata affinità del cadmio per i siti di legame di alcuni metalli essenziali (zinco, rame e manganese) (Lekhi, 2002; Celik et al., 2004), soprattutto a livello di proteine contenenti gruppi sulfidrilici, inoltre, fa sì che questo elemento sia altamente competitivo con questi metalli anche a basse concentrazioni (George and Olsson, 1994). Pertanto, i suoi ben documentati effetti tossici sugli organismi viventi (Friberg et al., 1986), vengono osservati anche a bassi livelli di esposizione (Gaspic et al., 2002) e comprendono una vasta gamma di patologie che interessano principalmente il fegato (Novelli et al., 1999), il rene (Klaassen and Liu, 1997; Novelli et al., 1999) e l'apparato riproduttore (Shen and Sangiah, 1995).

Nei pesci gli effetti più comuni includono un ritardo nello sviluppo e nella crescita (Lemaire and Lemaire, 1992), l'inibizione dell'assorbimento branchiale di calcio (Verbost et al., 1987), variazioni nei cicli metabolici fisiologici (Soengas et al., 1996; Almeida et al., 2001) ed un'alterata capacità di produrre uova e gameti (Lin et al., 2000), dovuta ad una diminuzione del peso della gonade cui segue la perdita della funzionalità (Colacci, 2001).

L'accumulo di cadmio negli organismi marini varia in funzione delle reazioni enzimatiche volte alla detossificazione (Jimenez and Stegeman, 1990), a loro volta modulate da numerosi fattori (temperatura dell'acqua, età dell'organismo, stato nutrizionale e disponibilità di ossigeno nel mezzo) (Jimenez and Stegeman, 1990).

Gli organismi filtratori, ed in particolare i bivalvi, sembrano essere i principali accumulatori di cadmio in ambiente (Eisler et al., 1972), tuttavia, fattori di concentrazione piuttosto variabili, compresi tra  $10^2$  e  $10^5$  sono riportati in letteratura per specie diverse (Ettajani et al., 2001):

La dieta è la principale via di esposizione per le categorie non esposte professionalmente (Llobet et al., 2003; Falco et al., 2006). Stime della WHO (1992) sostengono che una percentuale variabile tra il 2 ed il 6% del cadmio ingerito venga successivamente assorbita dall'organismo.

La forma chimica del cadmio, che ne determina il grado di solubilità in acqua e la tendenza ad accumularsi nel tessuto adiposo (Suedel et al., 1994), nonché la sideremia sono i fattori che influenzano maggiormente il suo tasso di assorbimento. Il tempo di residenza nel corpo umano è estremamente lungo e stimato in oltre 20 anni. Una porzione significativa di cadmio viene stoccata a livello di fegato e reni, sottoforma di metallo legato alle metallotioneine (Celik et al., 2004).

L'inalazione è considerata una via di esposizione trascurabile, eccetto per le categorie esposte professionalmente e per i fumatori, in cui questa può contribuire anche per il 50% all'apporto totale (Van Assche, 1998).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha fissato un Apporto Massimo Settimanale per il cadmio, pari a 7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  di peso corporeo. Questo valore corrisponde ad un intake giornaliero di 60  $\mu\text{g}$  di cadmio per una persona di 60 kg di peso corporeo.

L'intake medio di cadmio per la popolazione mondiale dei paesi industrializzati ha subito un calo dagli anni Settanta fino ai primi anni Novanta, probabilmente imputabile alla marcata riduzione delle emissioni atmosferiche, osservata in seguito all'implementazione di sistemi di controllo più evoluti (Van Assche and Ciarletta, 1992).

## Piombo

Il piombo è un elemento altamente tossico, soggetto ad accumulo e privo di riconosciuti effetti nutrizionali benefici per gli animali o per l'uomo (Holcombe et al., 1986; Schumacher et al., 1990; Celik et al., 2004).

La scoperta degli effetti negativi di questo elemento sulla salute umana ha portato, a partire dalla seconda metà del secolo scorso, ad una maggiore attenzione verso la sua diffusione nell'ambiente ed alla creazione di una serie di decreti e regolamenti volti all'abbattimento delle emissioni in atmosfera (Murozomi et al. 1969; Chow et al. 1975; Patterson, 1980; Pacyna, 1986; Nriagu and Pacyna, 1988; Tommasini et al., 2000).

Numerosi autori hanno studiato l'andamento delle concentrazioni di piombo pre e post-rivoluzione industriale, tutti sono concordi nell'affermare che queste sono cresciute enormemente dopo l'avvento delle macchine a motore alimentate mediante combustibili fossili.

Proprio i combustibili fossili, ed in particolare i composti alchilici del piombo (tetraetile e tetrametile), utilizzati come antidetonanti nelle benzine (Tommasini et al., 2000), infatti, hanno costituito ed ancora costituiscono la principale fonte di inquinamento da piombo in atmosfera (Murozomi et al., 1969; Shirahata et al., 1980; Pacyna et al., 1984; Nriagu, 1990; Graney et al., 1995; Bollhöfer and Rosman, 2001). Picchi massimi per le concentrazioni atmosferiche, infatti, sono stati osservati globalmente nella seconda metà del secolo scorso in concomitanza con l'aumento del traffico veicolare (von Storch et al., 2003; Schwikowski et al., 2004).

In atmosfera il piombo si comporta come un materiale inerte, pertanto il trasporto, che avviene anche per lunghe distanze grazie all'adesione a materiale particolato (Tommasini et al., 2000), risulta relativamente più semplice rispetto a quello di altre sostanze più reattive, come gli inquinanti organici persistenti (POPs) (von Storch et al., 2003).

La deposizione può avvenire sia in assenza che in presenza di precipitazioni (deposizione secca ed umida rispettivamente).

I due fenomeni differiscono notevolmente: la deposizione secca viene influenzata dal vento, dalla concentrazione di piombo nell'aria e dalla velocità di deposizione, mentre la deposizione umida è direttamente correlata al tasso di precipitazioni (von Storch et al., 2003).

La deposizione massima si osserva in prossimità della fonte di emissione, pertanto il tenore di piombo è maggiore nelle aree urbane, associate ad un traffico veicolare intenso (Gerdol et al., 2002), dove risulta ostacolata la dispersione del materiale particolato e della cenere (Burton, 1990).

Una volta deposto nel terreno il piombo viene bioaccumulato dagli organismi fotosintetici, entrando così nelle reti trofiche tramite cui può, eventualmente, raggiungere la popolazione umana (von Storch et al., 2003). La capacità delle piante terrestri di captare ed accumulare piombo è specie-specifica (König e Krämer, 1985). Studi condotti da König (1986) hanno dimostrato che l'intake di piombo atmosferico avviene prevalentemente tramite l'apparato fogliare.



Negli ambienti acquatici il piombo si ritrova in diverse specie chimiche, sia organiche che inorganiche; il tasso di assorbimento per gli organismi marini è regolato da numerose variabili tra cui la speciazione chimica, la località, il sesso, l'età, e lo stadio di maturità (Celik et al., 2004).

Gli organismi vengono esposti al piombo tramite la dieta e la captazione di questo elemento dai sedimenti. Questi funzionano come un "pozzo" da cui il piombo viene rilasciato lentamente ma in maniera continua (Bottos et al., 2005). Di conseguenza, il tenore di piombo negli ecosistemi marini non ha risentito visibilmente della riduzione nelle emissioni atmosferiche osservata in seguito alla messa al bando di alcuni composti a base piombo avvenuta nei primi anni Ottanta (von Storch et al., 2003).

È del 1985, infatti, la messa al bando delle benzine con piombo da parte della UE, sostituite con benzine senza piombo con un tenore massimo di composti di piombo pari a 0.013 g/l (Council Directive 85/210/EEC).

In aggiunta, l'introduzione sul territorio europeo della marmitta catalitica, precedentemente utilizzata in California, e la cui resa è inversamente proporzionale al tenore in piombo nella benzina, ha dato un ulteriore impulso all'uso della benzina senza piombo, portando parallelamente ad una riduzione delle emissioni di  $\text{NO}_x$ , CO e  $\text{C}_x\text{H}_x$  (von Storch et al., 2003).

Ciononostante, l'utilizzo di benzina con alto contenuto di piombo era ancora importante in molti Paesi europei fino al 1993 (Grecia, 83%; Spagna, 80%; Italia, 75%; Francia, 60%; Olanda, 25%; Danimarca, 25%, e Germania, 10%), al punto da portare alla stipula di un nuovo trattato nel 1998 (Trattato di Aarhus), secondo cui veniva reso obbligatorio su tutto il territorio europeo l'uso esclusivo di benzine prive di piombo entro il 2005 (Bollhöfer and Rosman, 2001).

Stime recenti attestano in circa 375000 tonnellate/anno l'ammontare delle emissioni globali di piombo in atmosfera (Nriagu, 1992; von Storch et al., 2003); queste sono per la maggior parte prodotte dalla combustione di benzine contenenti piombo, ancora utilizzate in numerosi paesi (Sud Africa e Sud America) (Bollhöfer and Rosman, 2001).

In Europa l'ESPREME ha quantificato in oltre 10000 tonnellate/anno la produzione di piombo da fonti antropogeniche (Fig. 48).

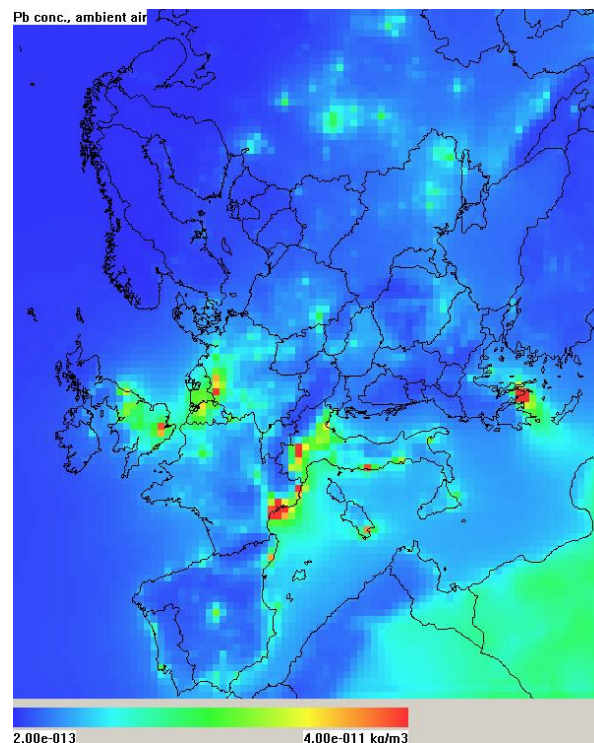


Fig. 48: Concentrazione europea annuale di piombo (EU-ESPREME Project, 2010)

Russia ed Ucraina congiuntamente contribuiscono a circa il 50% delle emissioni europee totali: in queste nazioni la maggior parte della benzina prodotta fa ancora parte della vecchia classe di benzina ad ottano (Löfgren and Hammar, 2000).

Tab. 31: Emissioni di piombo e suoi composti derivati da fonti antropogeniche nelle 10 nazioni Europee con le emissioni maggiori (tonnellate/anno) (ESPREME, 2010).

Nazione	Pb (tonnellate/anno)
Federazione Russa	3186,47
Italia	1919,22
Germania	942,41
Spagna	787,27
Ucraina	740,91
Turchia	650,9
Regno Unito	571,11
Romania	541,69
Francia	520,28
Polonia	437,14
Totale	10297,4

Se da un lato l'abolizione della benzina con piombo ha portato ad un decremento delle emissioni derivanti da questo tipo di combustione, d'altra parte ha prodotto un maggiore contributo delle

emissioni industriali (Nriagu and Pacyna, 1988; Sturges and Barrie, 1989; Veron et al., 1999). Questo è particolarmente vero per i Paesi dell'Europa dell'est, mentre nelle nazioni dell'Europa occidentale le emissioni di piombo dovute all'industria metallurgica hanno subito un notevole calo dopo il 1985 (von Storch et al., 2003).

## Materiali e Metodi

Durante le campagne di pesca sperimentali condotte nelle acque circostanti la Sardegna sono stati raccolti ed utilizzati per le analisi degli elementi in traccia 43 esemplari di *Merluccius merluccius* e 45 individui di *Scyliorhinus canicula*.

Per ogni esemplare esaminato sono state rilevate le principali biometrie, il sesso e lo stadio di maturità, la presenza di parassiti ed eventuali altre osservazioni.

Il range di taglia, peso e profondità di cattura, ed il livello trofico medio per specie sono riportati in Tab. 32.

Tab. 32.: Numero di individui analizzati (N), principali biometrie (TL, in cm e TW, in grammi), range di profondità di cattura (Depth, in metri), e livello trofico per *Merluccius merluccius* e *Scyliorhinus canicula*.

Species	N	Depth (m)	TL (cm)	TW (g)	Trophic Level
<i>M. merluccius</i>	43	68-783	9.6-37.8	5.13-450.36	3.70±0.59
<i>S. canicula</i>	45	34-561	19.6-47.2	20.34-336.21	3.89±0.54

In seguito alla cattura per ogni esemplare è stato effettuato il prelievo di un campione di muscolo di circa 2 grammi di peso dalla porzione caudale. Il prelievo è avvenuto in maniera tale da ridurre al minimo i rischi di contaminazione. Successivamente tutti i campioni di tessuto muscolare sono stati conservati in eppendorf a -20 °C fino al momento delle analisi.

Il trattamento dei campioni è avvenuto secondo il protocollo “Mussel Watch” tratto dal manuale di “Metodologie analitiche di riferimento” stilato dall’ICRAM e dal Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio – Servizio Difesa Mare con la collaborazione di ANPA.

Tale protocollo prevede la mineralizzazione dei campioni con opportune soluzioni acide mediante sistema chiuso pressurizzato a microonde, la cui temperatura e pressione massima di utilizzo (240° C e 8,3 MPa rispettivamente), sono finalizzate ad evitare la rottura dei contenitori di materiale inerte e trasparente alle microonde utilizzati nella digestione.

L’utilizzo di un mineralizzatore a microonde presenta numerosi vantaggi tra cui la riduzione dei tempi di attacco a circa 50 minuti, la limitazione dei rischi di inalazione o di manipolazione di acidi da parte dell’operatore ed, infine, la possibilità di programmare un gran numero di cicli operativi differenti per la solubilizzazione. Inoltre, permette una forte riduzione del volume di acidi consumati e del rischio di eventuali contaminazioni dovute al pulviscolo atmosferico.

Secondo la metodica descritta nel protocollo ogni aliquota di muscolo disidratata del peso di circa 1 grammo viene introdotta in un contenitore di Teflon, dotato di chiusura stagna e sensori per la temperatura e pressione (Fig. 49).

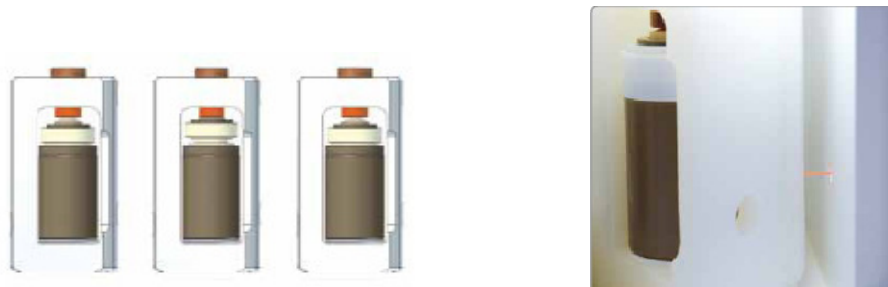


Fig. 49: Schema strutturale dei reattori utilizzati per la mineralizzazione e particolare del sensore per temperatura e pressione.

Successivamente, ad ogni campione vengono addizionati 7 ml di  $\text{HNO}_3$  ultrapuro ed 1 ml di  $\text{H}_2\text{O}_2$ . L'aggiunta dei reagenti, che ha lo scopo di portare alla rottura dei legami glicosidici all'interno del campione e quindi portare alla sua ossidazione, è seguita da un periodo di riposo di circa 15-20 minuti durante il quale si ha la stabilizzazione del composto. Trascorso questo lasso di tempo, tutti i contenitori vengono chiusi ermeticamente ed inseriti in opportuni rotori all'interno del mineralizzatore (fig. 50) ed il ciclo operativo prescelto viene impostato (Tab 33).



Fig. 50: Caricamento del mineralizzatore a microonde ETHOS One utilizzato per la quantificazione del tenore degli elementi in traccia

Tab. 33: Ciclo operativo per il sistema chiuso di digestione a microonde

STEP	TEMPO (MINUTI)	POTENZA (WATT)
1	1	250
2	1	0
3	5	250
4	5	400
5	5	650

Al termine del ciclo di digestione i campioni vengono lasciati raffreddare per circa 3-5 ore, in modo da permettere la riduzione della temperatura e della pressione sviluppate all'interno dei reattori. Dopo il raffreddamento i campioni ormai digeriti vengono filtrati utilizzando filtri in microfibra di vetro Whatman GF/A, e portati a volume noto mediante l'aggiunta di MilliQ (Milli-Q, Reagent Water System, Millipore Corp.). Infine, in seguito ad una blanda miscelazione, i digeriti vengono trasferiti in contenitori di polietilene da 50 ml con tappo a vite, etichettati e conservati fino alla lettura.

Al fine di verificare l'accuratezza della procedura analitica, per ogni set di campioni processati, un aliquota di materiale certificato (Tuna Fleah Homogenate Standard IAEA-436) di circa 200 mg ed un campione di controllo, indicato come "bianco", sono stati trattati ed analizzati alle stesse condizioni dei campioni. I valori di concentrazione relativi ai campioni di omogenato di muscolo di tonno (IAEA-436) sono in linea con i valori certificati (Tab. 34) con un tasso di recovery sempre molto buono (Recovery rate THg= 102; Recovery rate Cd= 101.4; Recovery rate Pb= 94).

Tab. 34: Concentrazione media, deviazione standard (SD), ed intervallo di confidenza al 95% per gli standard utilizzati, Tuna flesh homogenate IAEA 436 (Dati Reference Sheet IAEA, 2006), e concentrazione media riscontrata per gli stessi standard nel nostro studio. Tutti i valori sono espressi in µg/g di peso secco.

Elemento	Concentrazione e (mg/kg)	SD (mg/kg)	95% intervallo di confidenza (mg/kg)	Concentrazione nostro studio (µg/g)
Cadmio	0.052	0.007	0.050 - 0.054	0.053
Mercurio Totale	4.19	0.36	4.04 - 4.34	4.25
Piombo	0.051	0.007	0.050-0.052	0.048

Il contenuto dei metalli è stato determinato mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico con atomizzazione a fiamma (FAAS). Per cadmio e piombo la lettura dei digeriti è stata effettuata con uno

spettrometro AA240Z Zeeman (VARIAN AA240Z ZEEMAN ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETER - GTA120 GRAPHITE TUBE ATOMIZER), mentre per il mercurio è stata utilizzato il Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer AA240 FS.

La soluzione proveniente dalla mineralizzazione del campione viene aspirata e nebulizzata direttamente in un sistema con una fiamma ad elevata temperatura. Tutti gli elementi contenuti nella soluzione sono vaporizzati in forma di atomi (atomizzati); alcuni vengono parzialmente eccitati dalla temperatura della fiamma (2300 - 2950°C), ma la maggior parte resta allo stato fondamentale.

Gli atomi allo stato fondamentale assorbono energia radiante emessa da una lampada a precise lunghezze d'onda. La percentuale di energia radiante assorbita dall'elemento (assorbanza) segue la legge di Lambert-Beer, cioè è direttamente proporzionale alla lunghezza del cammino ottico (determinato dall'ampiezza della fiamma) ed alla concentrazione dell'elemento vaporizzato (Kingston and Haswell, 1997; Kingston and Jassie, 1998).

Per il calcolo delle concentrazioni finali viene utilizzata la seguente espressione:

$$C = \frac{A * V * D}{M}$$

In cui A è la concentrazione del metallo nella soluzione del campione, espressa come mg/L, V è il volume finale espresso in millilitri, D è il fattore di diluizione (se non c'è stata diluizione D è uguale a 1) ed infine, M è la massa del campione espressa in grammi.

I limiti di detenzione della metodologia, MDL (µg/g ww), per ogni elemento analizzato sono: Hg 0.1 µg/L, 0.1 µg/L Cd, e 0.1 µg/L Pb.

La percentuale d'acqua contenuta nel tessuto (%WC), è stata stimata singolarmente per ogni campione attraverso il processo di disidratazione in stufa alla temperatura di 60°C fino al raggiungimento del peso costante. Il contenuto d'acqua del muscolo è risultato pari a 19% e 24% per *M. merluccius* e *S. canicular* rispettivamente.

Dato che è noto che lo stato nutrizionale e quello riproduttivo di un organismo possono influenzare l'assorbimento e la concentrazione finale di un contaminante nel muscolo, l'indice gonadosomatico medio (GSI) e l'indice epatosomatico medio (HSI), sono stati calcolati secondo le seguenti formule (Granado, 1996):

$$GSI = \frac{GW}{TW} \times 100$$

in cui GW è il peso della gonade e TW il peso totale dell'individuo;

$$HSI = \frac{HW}{TW} \times 100$$

dove HW rappresenta il peso dell'epatopankreas mentre TW il peso totale dell'individuo. L'eventuale correlazione di questi indici con la concentrazione degli elementi in traccia è stata poi verificata mediante l'analisi della regressione ed il coefficiente di correlazione di Spearman.

La concentrazione dei metalli, inoltre, è stata analizzata in funzione del sesso; della taglia, utilizzando una suddivisione in tre classi di taglia per ambo le specie; dello stadio di maturità, classificando gli individui in immaturi, maturi e spenti; della profondità e dell'area di campionamento.

Infine, l'influenza del livello trofico sul tenore dei metalli nelle carni è stata verificata e testata statisticamente mediante l'analisi della regressione e il coefficiente di correlazione di Spearman.



## *Analisi statistica dei dati*

I valori di concentrazione delle tre specie metalliche sono stati sottoposti a test per verificare la normalità e l'omogeneità delle varianze (Computed Chi-Square goodness-of-fit, Shapiro-Wilks, Standardized Skewness e Standardized Kurtosis).

Per normalità della distribuzione, o distribuzione Gaussiana, si intende una curva di distribuzione la cui altezza nel punto  $X_i$  è espressa dalla relazione:

$$Y = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(X_i - \mu)^2 / 2\sigma^2}$$

L'altezza della curva,  $Y_i$ , è riferita ad una densità normale (Zar, 1999). Inoltre, per ogni data deviazione standard,  $\sigma$ , esiste un infinito numero di curve normali possibili e dipendenti da  $\mu$ . Allo stesso modo, per ogni data media,  $\mu$ , un infinito numero di curve normali è possibile, ognuna delle quali con un diverso valore di  $\sigma$ : una curva normale, con  $\mu = 0$  e  $\sigma = 1$  è definita come curva standardizzata normale.

In seguito a tali verifiche, la nostra scelta è ricaduta su test non parametrici, particolarmente adatti all'analisi di campioni non caratterizzati da una distribuzione normale (Krutchkoff, 1988; Zar, 1999).

Il test di Kolmogorov-Smirnov (K-S) (Kolmogorov, 1933; Smirnov, 1939a, b), anche chiamato test ad un campione, è stato prediletto per la comparazione binomiale. Quando applicabile, il test di Kolmogorov-Smirnov è molto più potente del chi-quadro, soprattutto quando il numero di osservazioni è limitato (Zar, 1999).

Il test di Kruskal-Wallis (K-W) (Kruskal and Wallis, 1952), invece, spesso conosciuto come test per l'analisi della varianza tra ranghi, è stato utilizzato per testare la differenza nelle concentrazioni degli elementi in traccia nel caso di comparazioni multiple. È calcolato secondo la formula:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

Dove  $n_i$  è il numero di osservazioni nel gruppo  $i$ ,  $N$  è uguale al numero totale di osservazioni in tutti i gruppi  $k$ , e  $R_i$  è la somma dei ranghi delle  $n_i$  osservazioni nel gruppo  $i$ .

I valori critici di  $H$  per piccoli campioni ( $k \leq 5$ ) sono rintracciabili in tabelle di contingenza specifiche, mentre nel caso di campioni più numerosi ( $k > 5$ ),  $H$  può essere considerato come una approssimazione di  $\chi^2$  con  $k-1$  gradi di libertà.

Successivamente all'applicazione del test di Kruskal-Wallis, nel caso in cui l'ipotesi nulla venga rifiutata, un'analisi non parametrica a posteriori può essere performata per ricercare da quale dei gruppi confrontati derivi la differenza significativa evidenziata. Nel nostro caso, dato che non

disponevamo di un uguale numero di dati per ciascun gruppo, la scelta è ricaduta sul test di Dunn (Dunn, 1964; Hollander and Wolfe, 1973; Zar, 1999), di cui viene di seguito riportata la formula:

$$Q = \frac{\overline{R_B - R_A}}{SE}$$

In cui  $\bar{R}$  indica un rango medio, ed SE l'errore standard.

Questo test generalizza la procedura di aggiustamento di Bonferroni, e si basa sulla suddivisione dei dati in ranghi, le cui somme vengono poi tabulate in ordine di grandezza crescente. Le differenze tra i ranghi estremi vengono, infine, confrontate tra loro al fine di ottenere dei valori critici  $Q$  (Zar, 1999).

Il coefficiente di variazione (CV) per le concentrazioni di mercurio totale, cadmio e piombo nel muscolo degli individui di *Merluccius merluccius* e *Scyliorhinus canicula* è stato calcolato secondo la formula proposta da Bustamante et al. (2006):

$$CV = (SD/Mean) * 100$$

In cui SD è la deviazione standard e Mean rappresenta la concentrazione media dell'elemento analizzato.

Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il programma Statgraphics Plus 5.1 e fogli di calcolo di Excel creati ad hoc nel caso del calcolo del test di Dunn, non supportato dal programma.

## Risultati

In totale sono stati analizzati 43 esemplari di *Merluccius merluccius* e 45 esemplari di *Scyliorhinus canicula*, catturati durante le campagne di pesca sperimentale condotte nei mari circostanti la Sardegna. I principali dati biometrici degli individui analizzati sono riportati in Tab. 35.

Tab. 35: Numero di individui analizzati (N), principali biometrie (TL, in cm e TW, in grammi), range di profondità di cattura (Depth, in metri), e livello trofico per *Merluccius merluccius* e *Scyliorhinus canicula*.

Species	N	Depth (m)	TL (cm)	TW (g)	Trophic Level
<i>M. merluccius</i>	43	68-783	9.6-37.8	5.13-450.36	3.70±0.59
<i>S. canicula</i>	45	34-561	19.6-47.2	20.34-336.21	3.89±0.54

Complessivamente, dal confronto tra le due specie emerge che il tessuto muscolare di *S. canicula* è caratterizzato da maggiori concentrazioni di mercurio totale (K-S = 4.153, P-value < 0.05), mentre il piombo è leggermente più concentrato nelle carni di *M. merluccius* (K-S = 3.439, P-value < 0.05). Per quanto concerne il cadmio, invece, le concentrazioni rilevate per ambo le specie sono piuttosto basse e simili tra loro (K-S = 9.990, P-value > 0.05) (Tab. 36).

Tab. 36: Concentrazione media di mercurio totale, cadmio e piombo (in µg su g dw) per *Merluccius merluccius* e *Scyliorhinus canicula*.

Species	THg (µg/g)	Cd (µg/g)	Pb (µg/g)
<i>M. merluccius</i>	0.605±0.681	0.051±0.007	0.188±0.244
<i>S. canicula</i>	4.188±2.365	0.051±0.006	0.159±0.290

## *Merluccius merluccius*

La concentrazione di mercurio totale e piombo nel muscolo di *Merluccius merluccius* sembra essere influenzata, seppure lievemente, dal sesso. Le femmine, infatti, sono caratterizzate da un range di concentrazioni più ampio e da un tenore medio maggiore rispetto a quanto riscontrato per i maschi (Fig. 51A, C, Tab. 37). Ciononostante, tali differenze non vengono confermate dal punto di vista statistico (THg: K-S = 0.63, P-value > 0.05; Pb: K-S = 0.09; P-value >0.05). La concentrazione di cadmio al contrario è molto simile nel muscolo di maschi e femmine che, pertanto, non differiscono statisticamente (Fig. 51B) (Cd: K-S = -0.11; P-value >0.05).

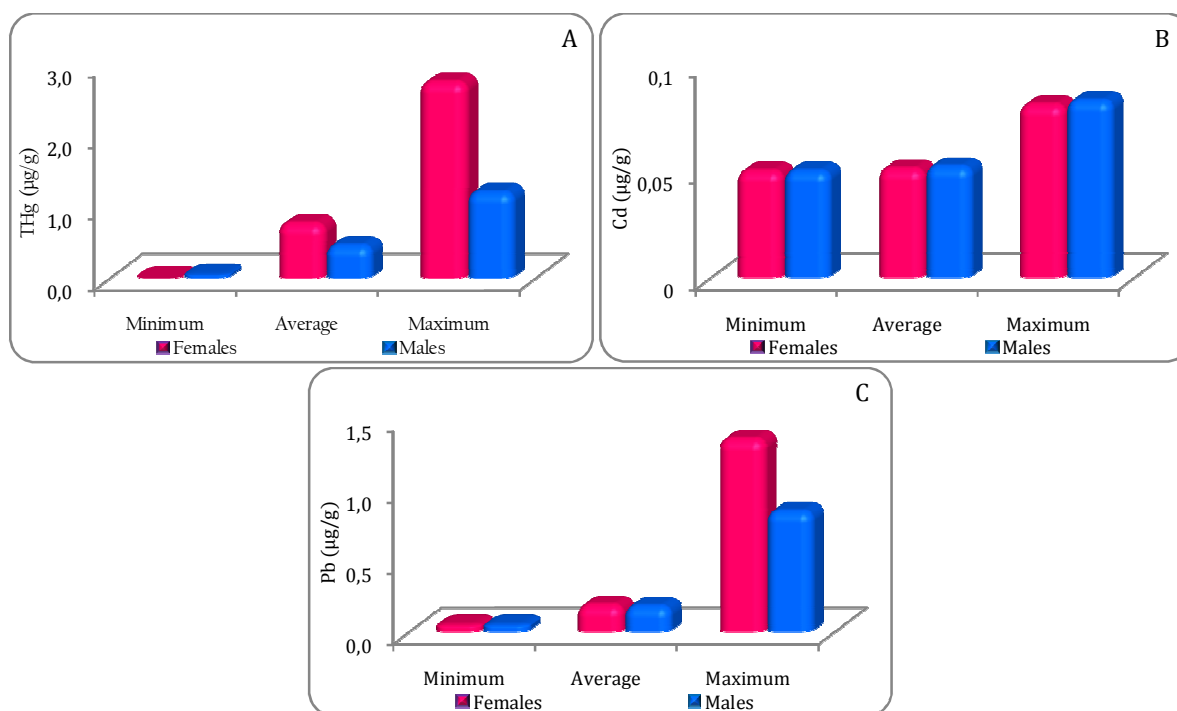


Fig. 51: Range (Min-Max) e concentrazione media (Average) di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di maschi e femmine di *Merluccius merluccius*.

Tab. 37: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), range (Min-Max) e coefficiente di variazione (CV), relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di maschi e femmine di *Merluccius merluccius*.

THg	Females	Males
Mean ± SD (µg/g dw)	0.764±0.861	0.455±0.375
Min-Max	0.001-2.751	0.050-1.204
CV (%)	113	82
Cd	Females	Males
Mean ± SD (µg/g dw)	0.051±0.007	0.052±0.008
Min-Max	0.050-0.081	0.050-0.083

Pb	Females	Males
Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g dw}$ )	0.187 $\pm$ 0.286	0.180 $\pm$ 0.197
Min-Max	0.050-1.357	0.050-0.848
CV (%)	153	110

Il tenore di cadmio e mercurio totale, inoltre, sembra essere correlato alla taglia dell'individuo. Nello specifico gli individui di taglia maggiore (Big; TL > 30 cm) presentano una concentrazione di THg quasi tripla rispetto agli individui di taglia media (Medium; 15 < TL < 30), e ben otto volte superiore rispetto agli individui di taglia piccola (Small; TL < 15 cm) (Fig. 52A, Tab. 38). Questo incremento è statisticamente significativo, come dimostrato dal test di Kruskal-Wallis (THg: K-W = 13.394; P-Value < 0.05) e dal test a posteriori di Dunn. L'aumento della concentrazione di cadmio al crescere della taglia è decisamente meno marcato ed, infatti, non viene confermato statisticamente (Cd: K-W= 1.321; P-value>0.05) (Fig. 52B, Tab. 35). Contrariamente a quanto riscontrato per mercurio e cadmio, la concentrazione di piombo in *M. merluccius* non segue un andamento lineare in relazione alla taglia dell'individuo (Fig. 52C). Le concentrazioni massime sono caratteristiche degli individui di taglia maggiore (Big), mentre valori di tenore minimo si riscontrano negli esemplari Medium. Il confronto statistico tra le concentrazioni medie denota l'esistenza di differenze significative (Pb: K-W= 6.528; P-value<0.05), imputabili alla differenza riscontrata tra la classe di taglia Small e Medium come suggerito dal test a posteriori di Dunn.

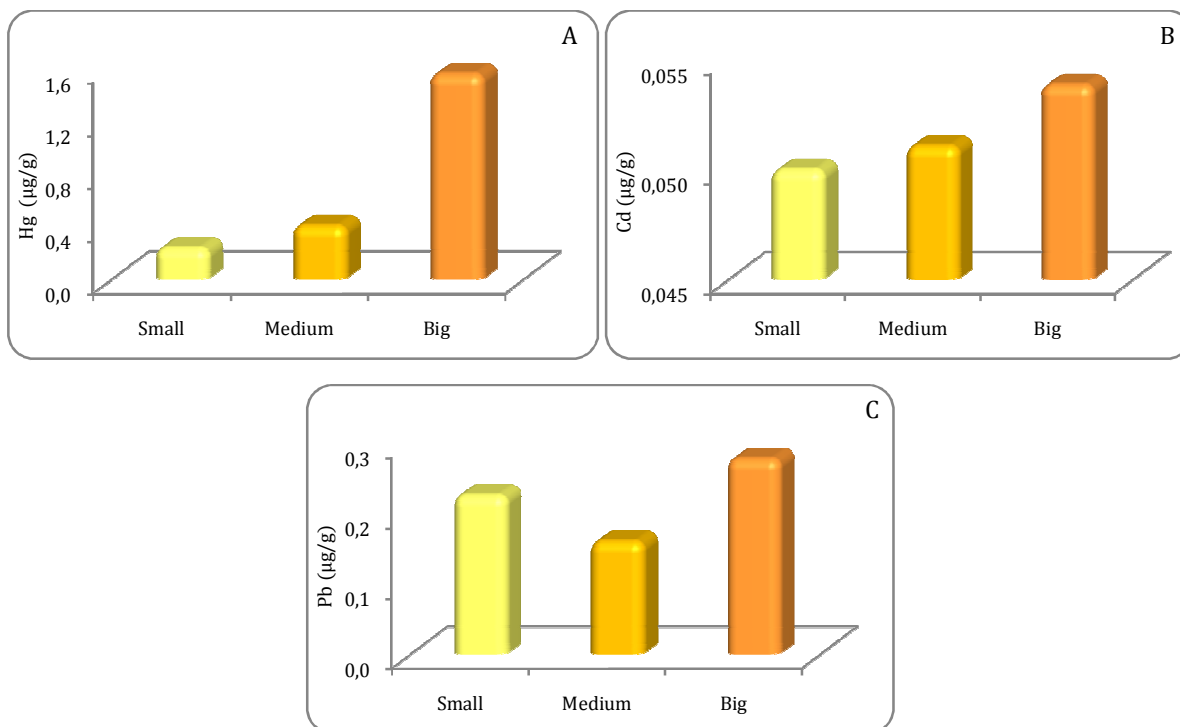


Fig. 52: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* in relazione alla classe di taglia.

Correlazioni positive caratterizzano la relazione che intercorre tra la concentrazione muscolare di THg e la lunghezza totale (TL), descritta mediante una regressione lineare, e tra la concentrazione del mercurio ed il peso totale (TW) dell'individuo, rappresentata, invece, mediante un modello a curva S. In entrambi i casi le correlazioni sono significative, con valori lievemente più marcati per la relazione THg-TL (THg-TL: Spearman's rho = 0.588;  $p < 0.05$  e  $R = 0.593$ ;  $p < 0.05$  e THg-TW: Spearman's rho = 0.513;  $p < 0.05$  e  $R = 0.545$ ;  $p < 0.05$ ) (Fig. 53A, B).

Nessuna correlazione statisticamente significativa, invece, è stata evidenziata analizzando la concentrazione di cadmio e piombo in funzione della taglia (Cd: Spearman's rho = 0.038; P-Value > 0.05 e  $R = -0.079$ , P-Value > 0.05; Pb: Spearman's rho = -0.261; P-Value > 0.05 e  $R = -0.238$ , P-Value > 0.05) o del peso corporeo dell'esemplare (Cd: Spearman's rho = 0.129; P-Value > 0.05 e  $R = -0.131$ ; P-Value > 0.05; Pb: Spearman's rho = -0.116; P-Value > 0.05 e  $R = -0.256$ , P-Value > 0.05).

Tab. 38: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* in relazione alla classe di taglia.

THg	Mean $\pm$ SD (µg/g dw)	CV (%)
Small	0.238 $\pm$ 0.133	56
Medium	0.406 $\pm$ 0.351	86
Big	1.560 $\pm$ 0.977	63
Cd	Mean $\pm$ SD (µg/g dw)	CV (%)
Small	0.050 $\pm$ 0.000	0
Medium	0.051 $\pm$ 0.006	12
Big	0.054 $\pm$ 0.011	20
Pb	Mean $\pm$ SD (µg/g dw)	CV (%)
Small	0.226 $\pm$ 0.046	20
Medium	0.160 $\pm$ 0.185	115
Big	0.278 $\pm$ 0.444	160

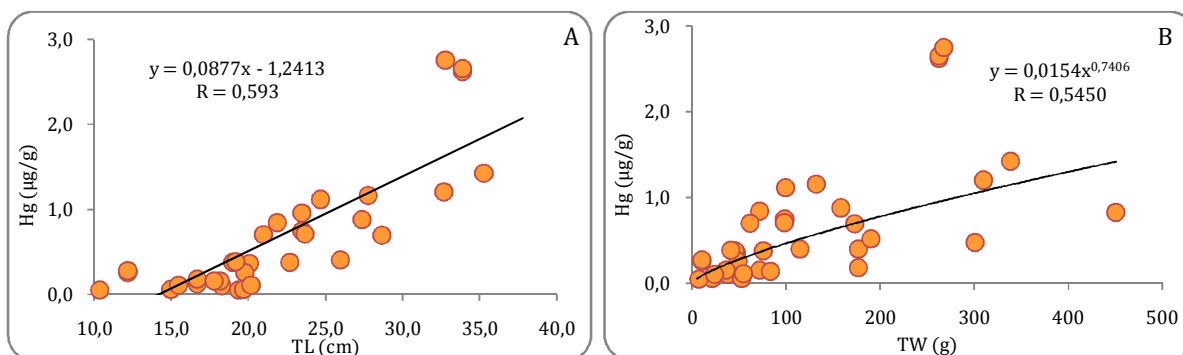


Fig. 53: Correlazione tra il mercurio totale (THg,  $\mu\text{g/g dw}$ ) e la lunghezza totale (TL, in cm) (A) e tra il mercurio totale (THg,  $\mu\text{g/g dw}$ ) ed il peso totale (TW, in g) (B) nel muscolo di *Merluccius merluccius*.

L'influenza del periodo riproduttivo sull'accumulo dei contaminanti è stata testata sia mediante una comparazione della concentrazione media degli individui immaturi, maturi ed in fase di post-deposizione (Immature, Mature e Spent), sia mediante la correlazione di questo parametro con l'andamento degli indici gonadosomatico (GSI) ed epatosomatico (HSI), di cui vengono riportati i valori medi per *M. merluccius* in Tab. 39.

Tab. 39: Concentrazione media e deviazione standard dell'indice epatosomatico (HSI) e gonadosomatico (GSI) negli individui immaturi, maturi ed in post-deposizione di *Merluccius merluccius*.

	HSI (Mean $\pm$ SD)	GSI (Mean $\pm$ SD)
Immature	2.524 $\pm$ 0.673	0.264 $\pm$ 0.277
Mature	2.695 $\pm$ 0.855	0.487 $\pm$ 0.247
Spent	2.515 $\pm$ 0.697	0.474 $\pm$ 0.181

Per quanto concerne il mercurio totale, un incremento del suo tenore negli stadi maturi e spenti è evidente (Fig. 54A). In particolare, gli individui in fase post-riproduttiva presentano concentrazioni di mercurio totale quadruple rispetto agli individui immaturi (Tab. 40). Tali differenze vengono confermate statisticamente dal test di Kruskal-Wallis (THg: K-W = 6.563; P-Value < 0.05), ma non dal test a posteriori di Dunn.

Le concentrazioni di cadmio sono dello stesso ordine di grandezza in tutte le classi: solo gli individui maturi sono caratterizzati da concentrazioni lievemente maggiori (Fig. 54B e Tab. 40). Di conseguenza, il test di Kruskal-Wallis non riscontra differenze statisticamente significative tra le concentrazioni (Cd: K-W= 3.203; P-value >0.05).

Analogamente, gli individui maturi presentano il maggior tenore di piombo nelle carni, mentre gli individui in fase post-riproduttiva sono caratterizzati dalle concentrazioni più basse (Pb: K-W= 1.960; P-value > 0.05) (Fig. 54C, Tab. 40).

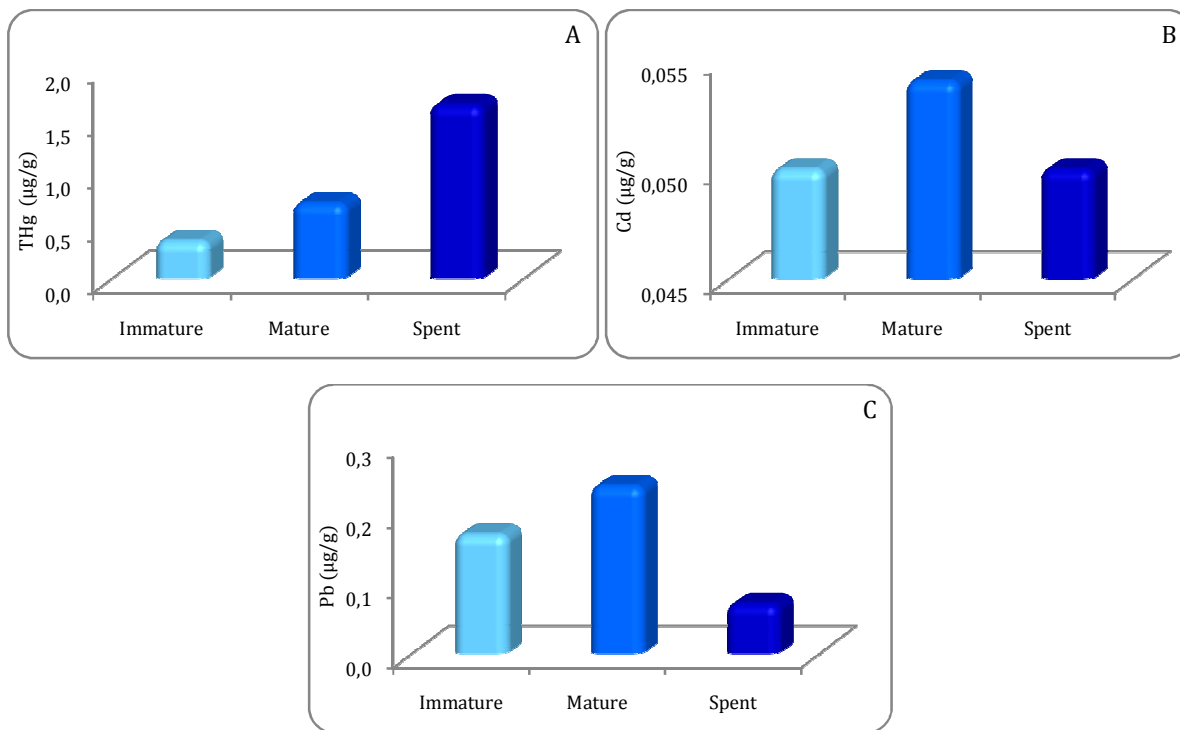


Fig. 54: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* in relazione allo stadio di maturità.

Tab. 40: Concentrazione media (mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* in relazione allo stadio di maturità.

THg	Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
Immature	0.358±0.292	82
Mature	0.714±0.690	97
Spent	1.650±1.225	74
Cd	Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
Immature	0.050±0.000	0
Mature	0.054±0.011	20
Spent	0.050±0.000	0
Pb	Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
Immature	0.169±0.180	106
Mature	0.238±0.335	141
Spent	0.070±0.041	58

Nessuna correlazione significativa emerge dall'analisi del rapporto che intercorre tra la concentrazione del metallo e l'indice gonadosomatico (GSI) (THg: Spearman's rho = 0.254; P-value > 0.05 e R= 0.271; P-value > 0.05; Cd: Spearman's rho = -0.074; P-value > 0.05 e R = -0.204, P-value > 0.05; Pb:



Spearman's rho = 0.060; P-value > 0.05 e R = -0.076, P-value > 0.05) e l'indice epatosomatico (HSI) (THg: Spearman's rho = 0.098; P-value > 0.05 e R = -0.128; P-value > 0.05; Cd: Spearman's rho = 0.179; P-value > 0.05 e R = 0.103, P-value > 0.05; Pb: Spearman's rho = 0.036; P-value > 0.05 e R = 0.177, P-value > 0.05) per tutti e tre gli elementi in traccia.

La variabilità nell'accumulo degli elementi in traccia in funzione dell'area di campionamento è piuttosto sostenuta per piombo e mercurio, mentre le concentrazioni di cadmio si mantengono pressoché costanti in tutte le aree di campionamento.

Il range per il mercurio totale varia tra 0.169 e 0.954 mg/kg. Concentrazioni massime sono proprie degli individui catturati nella zona di Olbia e del Golfo di Cagliari (Fig. 55A e Tab. 41 rispettivamente), mentre concentrazioni inferiori alla media (Mean [THg] = 0.634) sono caratteristiche delle zone 5 e 6, corrispondenti all'area del Golfo di Oristano e delle coste del Sulcis-Iglesiente.

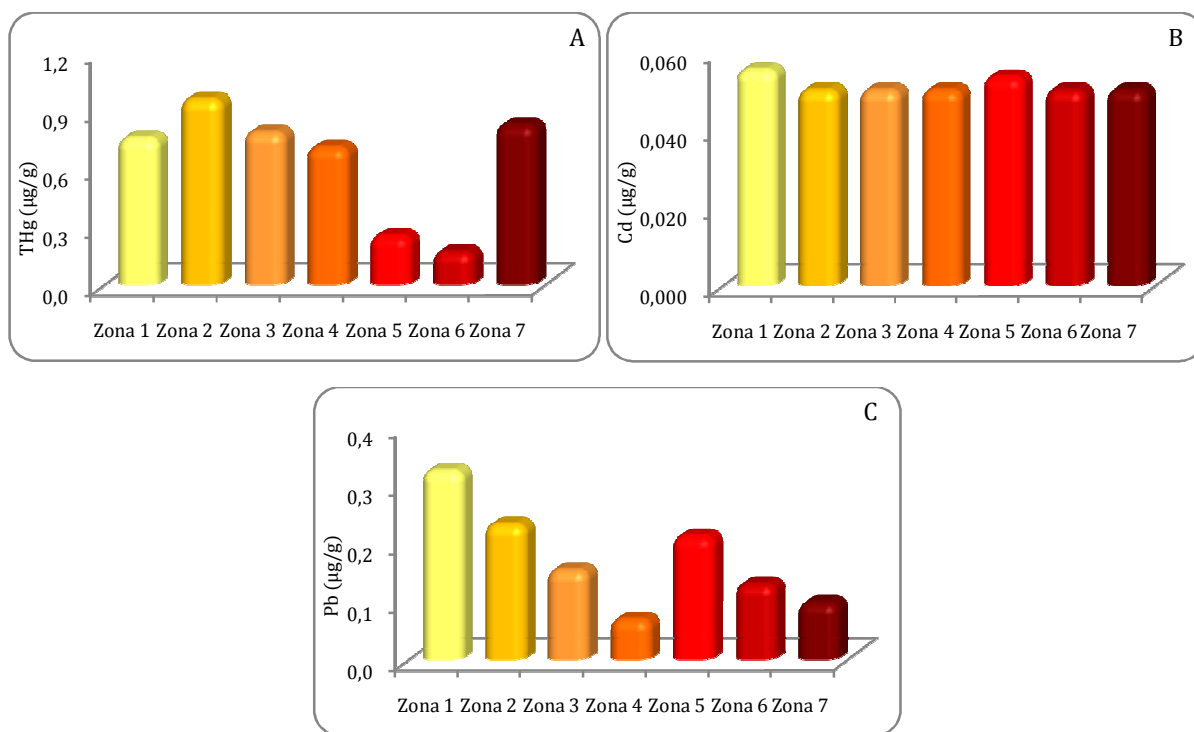


Fig. 55: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) relativa al muscolo di *Merluccius merluccius* nelle differenti aree di campionamento.

L'applicazione del test di Kruskal-Wallis porta alla luce l'esistenza di differenze significative (THg: K-W=16.533; P-value < 0.05), non confermate dal test a posteriori di Dunn. Ciononostante è possibile attribuire una maggiore diversità alle zone 5, 6 e 7.

Le concentrazioni di cadmio sono lievemente superiori nelle aree di Arbatax ed Oristano, ma comunque limitate (Fig. 525B e Tab. 41). Nessuna differenza statisticamente significativa è emersa dal confronto tra le aree (Cd: K-W= 3,757; P-value > 0.05).

Per quanto riguarda il piombo, il picco massimo è relativo alla zona 1 (Arbatax), mentre concentrazioni medio-alte caratterizzano le zone 2 e 5 (Olbia ed Oristano rispettivamente) (Fig. 55C e Tab. 41). Ciononostante, nessuna differenza significativa tra le aree emerge in seguito all'applicazione del test di Kruskal-Wallis (Pb: K-W= 5.547; P-value > 0.05).

Tab. 41: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius*.

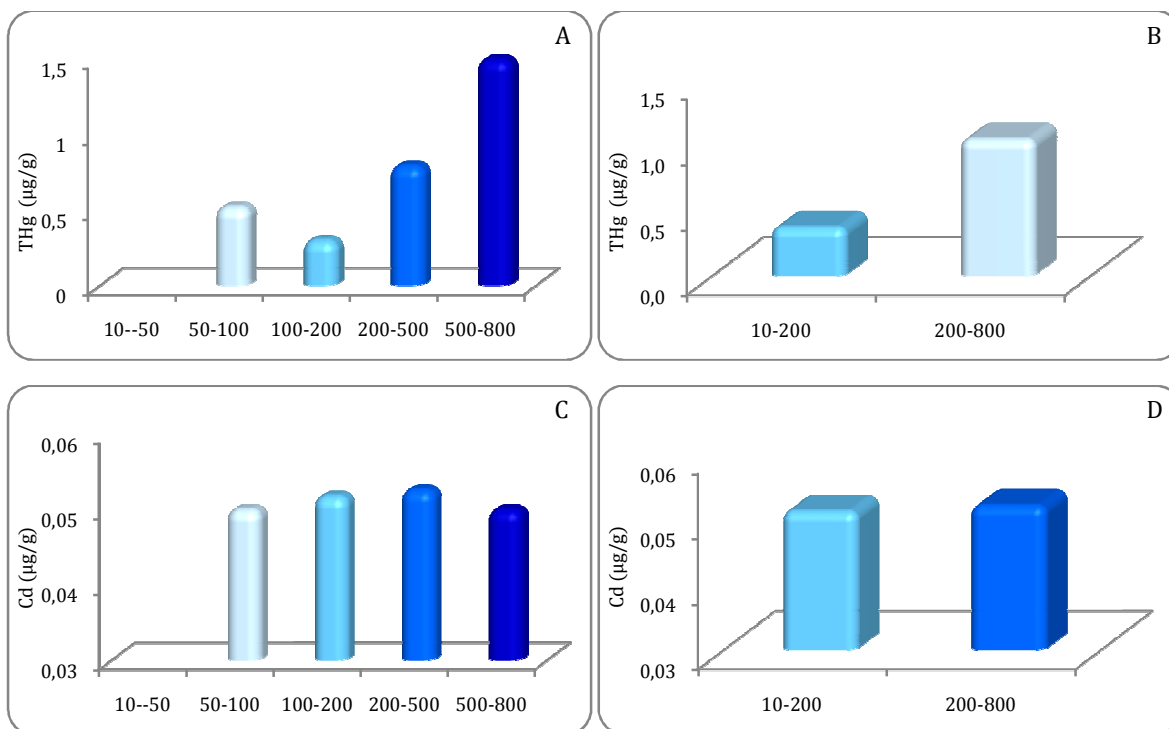
THg	Mean ±SD (µg/g dw)	CV (%)
Zona 1	0.753±0.366	49
Zona 2	0.954±0.811	85
Zona 3	0.784±1.233	157
Zona 4	0.706±1.086	154
Zona 5	0.250±0.233	93
Zona 6	0.169±0.110	65
Zona 7	0.822±0.254	31
Cd	Mean ±SD (µg/g dw)	CV (%)
Zona 1	0.055±0.013	15
Zona 2	0.050±0.000	14
Zona 3	0.050±0.000	14
Zona 4	0.050±0.000	14
Zona 5	0.053±0.011	15
Zona 6	0.050±0.000	14
Zona 7	0.050±0.000	14
Pb	Mean ±SD (µg/g dw)	CV (%)
Zona 1	0.323±0.516	159
Zona 2	0.231±0.324	140
Zona 3	0.153±0.094	61
Zona 4	0.069±0.029	43
Zona 5	0.211±0.135	64
Zona 6	0.129±0.092	71
Zona 7	0.097±0.046	48

Per quanto concerne la variazione del tenore dei metalli in funzione della profondità, comportamenti analoghi vengono descritti per mercurio e piombo, mentre nessun particolare pattern viene evidenziato per il cadmio.

Il confronto tra le concentrazioni medie di cadmio calcolate per strati batimetrici (Fig. 56C, Tab. 42) (Cd: K-W = 0.915, P-Value > 0.05) e per piattaforma e scarpata continentale (Fig. 56D, Tab. 42) non risulta statisticamente significativo (Cd: K-S = 3.014, P-value > 0.05).

Un incremento regolare della concentrazione media di mercurio totale all'aumentare della profondità, è evidente, sia quando si considerano i cinque strati batimetrici (Fig. 56A), sia quando si analizza la suddivisione in platea e scarpata (Fig. 56B). Tali incrementi vengono confermati statisticamente mediante il test di Kruskal-Wallis e Kolmogorov-Smirnov rispettivamente (THg: K-W = 14,867, P-value < 0.05; THg: K-S = 2.344, P-Value < 0.05).

Relativamente al piombo, infine, un aumento del tenore nelle carni di *M. merluccius*, seppure meno marcato di quello osservato per il mercurio, è riscontrabile in ambedue le suddivisioni batimetriche (Fig. 56E, F). In particolare, le concentrazioni massime di piombo si riferiscono agli individui della fascia batimetrica compresa tra 200 e 500 metri di profondità (Tab. 39). Differenze significative vengono riscontrate unicamente per piattaforma e scarpata continentale (Pb: K-S = 1.490, P-value < 0.05), mentre il confronto tra i cinque strati batimetrici non appare significativo (Pb: K-W = 1.048, P-value > 0.05).



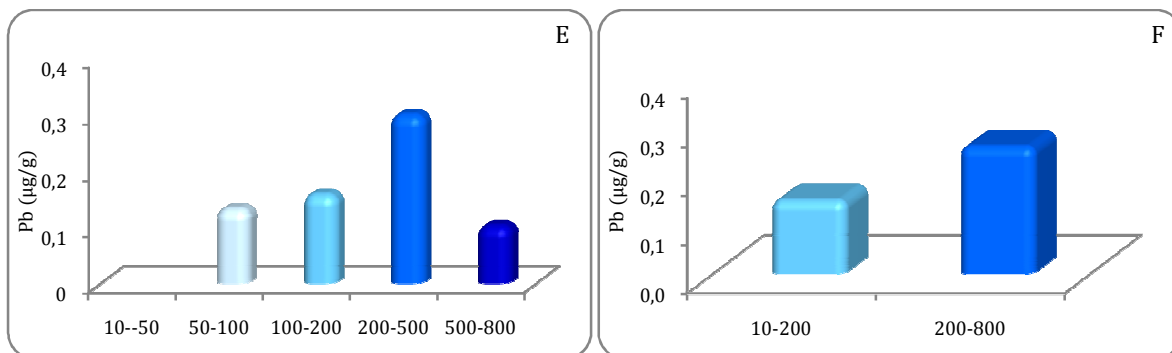


Fig. 56: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* in relazione alla profondità.

Tab. 42: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw) e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* in funzione della profondità di campionamento.

Depth	THg Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-50		
50-100	0,521±0,468	14
100-200	0,298±0,353	8
200-500	0,793±0,665	22
500-800	2,053±1,015	56
Depth	THg Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-200	0,370±0,399	26
200-800	1,045±0,876	74
Depth	Cd Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-50		
50-100	0.050±0.000	0
100-200	0.052±0.008	15
200-500	0.053±0.009	17
500-800	0.050±0.000	0
Depth	Cd Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-200	0.051±0.006	12
200-800	0.052±0.008	15
Depth	Pb Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-50		
50-100	0.133±0.135	19
100-200	0.158±0.123	23
200-500	0.299±0.412	43
Depth	Pb Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
500-800	0.102±0.046	15
Depth	Pb Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)

10-200	$0.150 \pm 0.125$	37
200-800	$0.260 \pm 0.375$	63

L'esistenza di correlazioni tra la profondità e la concentrazione degli elementi in traccia, tuttavia, è stata verificata solo per il mercurio totale (THg: Spearman's rho = 0.569 P-value < 0.05 e R = 0.563, p < 0.05; Fig. 57), mentre l'analisi della regressione lineare per il tenore di cadmio e piombo indica l'assenza di correlazione tra le variabili analizzate (Cd: Spearman's rho = 0.038 P-value > 0.05 e R = 0.094, P-value > 0.05; Pb: Spearman's rho = 0.218 P-value > 0.05 e R = 0.237, P-value > 0.05).

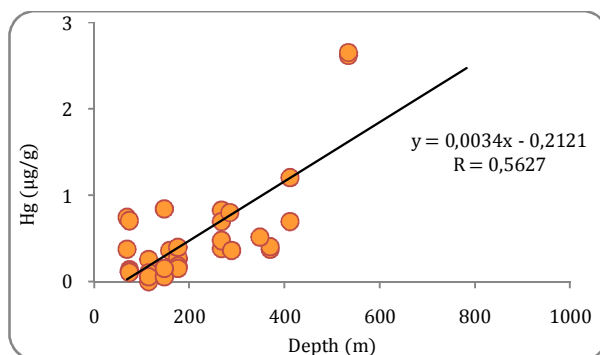


Fig. 57: Correlazione tra la concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw) nel muscolo di *Merluccius merluccius* e la profondità di campionamento.

Infine, l'influenza del livello trofico occupato dalla specie sull'assorbimento dei metalli in esame è stata indagata utilizzando i valori di TROPH ottenuti in seguito all'analisi della dieta.

Correlazioni positive moderatamente forti, ma mai significative, caratterizzano la relazione tra TROPH e tenore di mercurio per classe di taglia (TROPH-Size: Spearman's rho = 0.992 P-value < 0.05 e R = 0.674, P-value < 0.05) e tra TROPH e concentrazione di mercurio in relazione allo stadio di maturità (TROPH-Stage: Spearman's rho = 0.995 P-value < 0.05 e R = 0.700, P-value < 0.05), mentre correlazioni decisamente più deboli, sempre non statisticamente significative legano il tenore di mercurio e l'indice TROPH per area di campionamento (TROPH-Areas: Spearman's rho = 0.071; P-value > 0.05 e R = 0.300, P-value > 0.05) e per strati batimetrici (TROPH-Depth: Spearman's rho = 0.227 P-value > 0.05 e R = 0.227, P-value > 0.05).

Per quanto riguarda il cadmio, correlazioni robuste sono state riscontrate unicamente per il livello trofico per taglia (TROPH-Size: Spearman's rho = 0.999, P-value < 0.05 e R = 0.750, P-value < 0.05) e per stadio (TROPH-Stage: Spearman's rho = 0.500, P-value > 0.05 e R = 0.492, P-value > 0.05). Correlazioni deboli e, pertanto, trascurabili si osservano tra il livello trofico e la concentrazione nelle aree di campionamento (TROPH-Areas: Spearman's rho = -0.187, P-value > 0.05 e R = 0.050, P-value > 0.05) ed in funzione della profondità (TROPH-Depth: Spearman's rho = -0.132 P-value > 0.05 e R =

0.032, P-value > 0.05). Nessuna correlazione, tuttavia, è risultata significativa dal punto di vista statistico.

Infine, la concentrazione di piombo non sembra essere correlata con l'indice trofico in nessuno dei casi analizzati: tutti i coefficienti di correlazione presentavano valori molto bassi ed, inoltre, il valore di P-value ha indicato sempre valori del limite di confidenza superiori al 95% (TROPH-Size: Spearman's rho = 0.500, P-value > 0.05 e R = 0.013, P-value > 0.05; TROPH-Stage: Spearman's rho = -0.500, P-value > 0.05 e R = 0.110, P-value > 0.05; TROPH-Areas: Spearman's rho = -0.086, P-value > 0.05 e R = 0.025, P-value > 0.05; TROPH-Depth: Spearman's rho = -0.529 P-value > 0.05 e R = 0.157, P-value > 0.05).

### *Scyliorhinus canicula*

Analogamente a quanto osservato per il nasello, anche in *Scyliorhinus canicula* il sesso sembra influenzare l'accumulo di metalli: le femmine, infatti, differiscono dai maschi per un maggiore tenore di tutti gli elementi analizzati (Fig. 58A-C, Tab. 43). Tali differenze, tuttavia, appaiono lievi, soprattutto per quanto concerne il cadmio e non vengono confermate dal punto di vista statistico (THg: K-S = 0.53, P-value > 0.05; Cd: K-S = 1.03, P-value > 0.05; Pb: K-S = 0.38, P-value > 0.05).

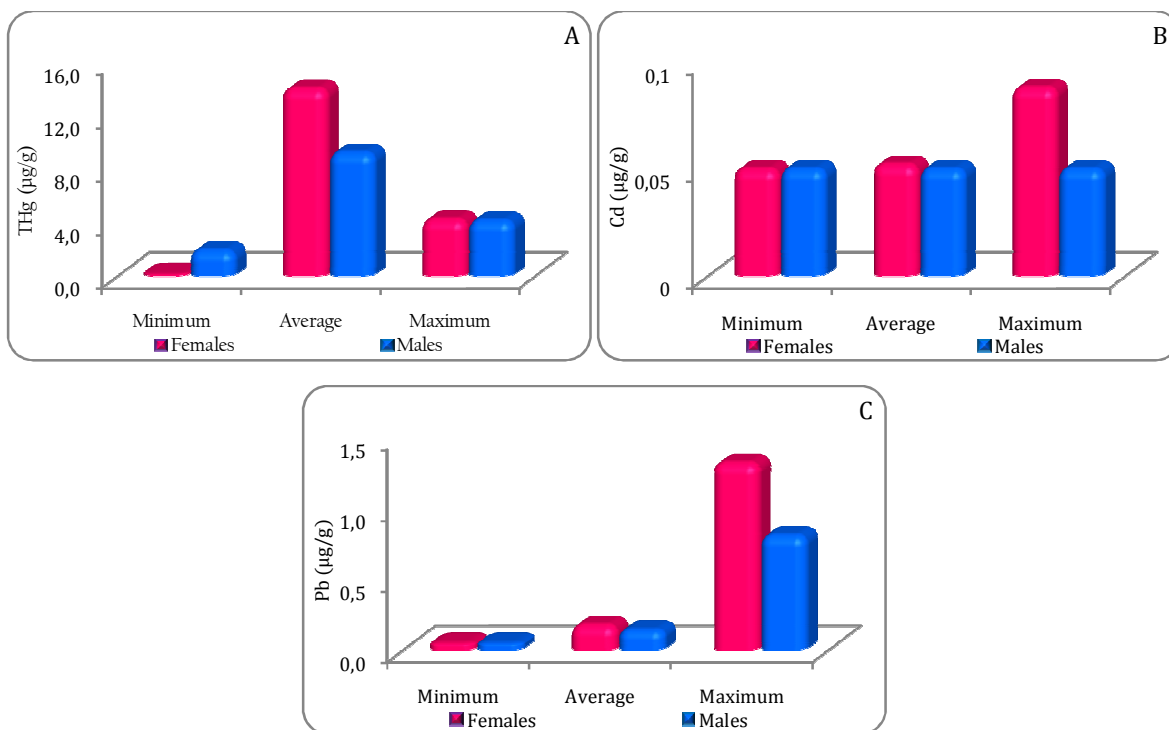
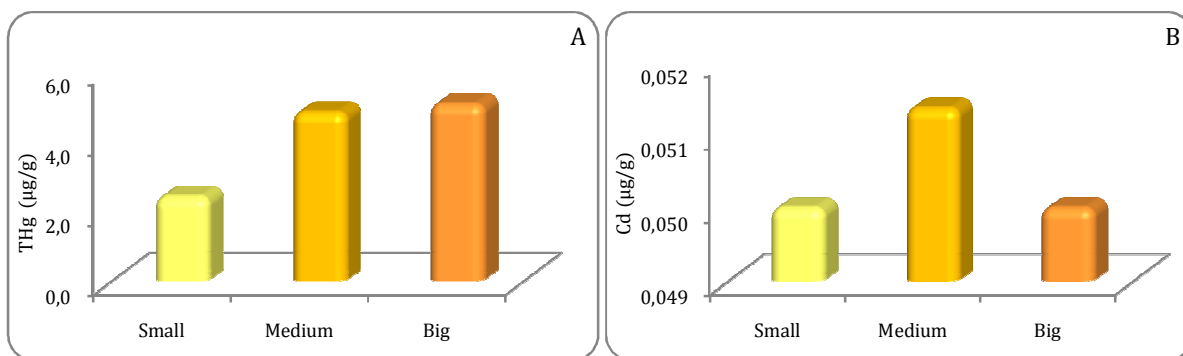


Fig. 58: Concentrazione mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di maschi e femmine di *Scyliorhinus canicula*.

Tab. 43: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), range (Min-Max) e coefficiente di variazione (CV), relativi al mercurio totale (THg,  $\mu\text{g/g dw}$ ), cadmio (Cd,  $\mu\text{g/g dw}$ ) nel muscolo del campione femminile e maschile di *Scyliorhinus canicula*.

THg	Females	Males
Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g dw}$ )	4,222 $\pm$ 2,807	4,146 $\pm$ 1,730
Min-Max ( $\mu\text{g/g dw}$ )	0,177-14,013	1,907-9,217
CV (%)	66	42
Cd	Females	Males
Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g dw}$ )	0,052 $\pm$ 0.008	0,050 $\pm$ 0.000
Min-Max ( $\mu\text{g/g dw}$ )	0,050-0,088	0,050-0,050
CV (%)	15	0
Pb	Females	Males
Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g dw}$ )	0.173 $\pm$ 0.349	0.140 $\pm$ 0.200
Min-Max ( $\mu\text{g/g dw}$ )	0.050-1.314	0.050-0.805
CV (%)	201	143

Un trend lineare, in cui si assiste all'incremento del tenore medio all'aumentare delle dimensioni corporee, si osserva unicamente per il mercurio totale (Fig. 59A). I valori minimi caratterizzano gli esemplari di piccole dimensioni (Small), mentre individui di taglia medio-grande (Medium e Big) presentano concentrazioni di mercurio piuttosto simili tra loro (Tab. 44). Per cadmio e piombo, invece, non è possibile riconoscere un andamento regolare (Fig. 59B, C). In particolare, concentrazioni maggiori di cadmio caratterizzano gli individui Medium, mentre individui Small e Big presentano valori di cadmio muscolari molto simili. Infine, il tenore massimo di piombo è stato riscontrato negli individui di taglia maggiore, mentre la concentrazione minima è associata agli individui di taglia media (Fig. 59C).



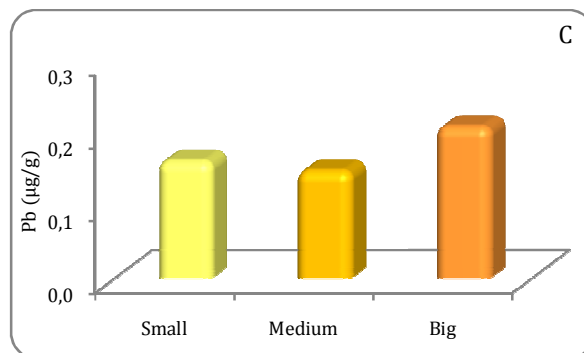


Fig. 59: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla classe di taglia.

L'analisi statistica conferma la significatività delle differenze osservate per il mercurio totale (THg: K-W = 14.824; P-Value < 0.05), imputabili prevalentemente alla classe di taglia che comprende gli individui Small, come suggerito dal test a posteriori di Dunn. Al contrario, nessuna differenza statistica viene riscontrata per il tenore in piombo e cadmio (Pb: K-W = 1.091; P-Value > 0.05; Cd: K-W = 0.548; P-Value > 0.05).

Tab. 44: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla classe di taglia.

THg	Mean±SD (µg/g dw)	CV (%)
Small	2.394±1.093	46
Medium	4.806±2.568	53
Big	5.036±0.704	14
Cd	Mean±SD (µg/g dw)	CV (%)
Small	0.050±0.000	0
Medium	0.051±0.007	14
Big	0.050±0.000	0
Pb	Mean±SD (µg/g dw)	CV (%)
Small	0.162±0.363	225
Medium	0.148±0.257	173
Big	0.209±0.333	159

Correlazioni significative vengono evidenziate unicamente per il tenore di mercurio totale e la taglia ed il peso degli esemplari (THg-TL: Spearman's rho = 0.677; P-value < 0.05 e R = 0.664; P-value < 0.05 e THg-TW: Spearman's rho = 0.705; P-value < 0.05 e R = -0.772; P-value < 0.05) (Fig. 60A, B), mentre nessuna evidente relazione lega la concentrazione di piombo e cadmio e la taglia ed il peso corporeo dell'individuo (Cd-TL: Spearman's rho = 0.151; P-value > 0.05 e R = 0.132; P-value > 0.05; Cd-TW: Spearman's rho = 0.137; P-value > 0.05 e R = 0.136; P-value > 0.05; Pb-TL: Spearman's rho = 0.113;



P-value > 0.05 e  $R = -0.117$ ; P-value > 0.05; Pb-TW: Spearman's  $\rho = 0.151$ ; P-value > 0.05 e  $R = -0.159$ ; P-value > 0.05).

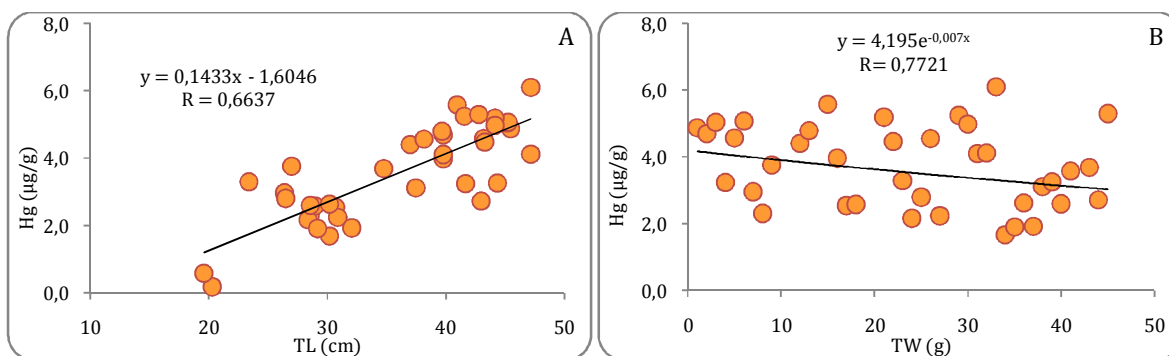
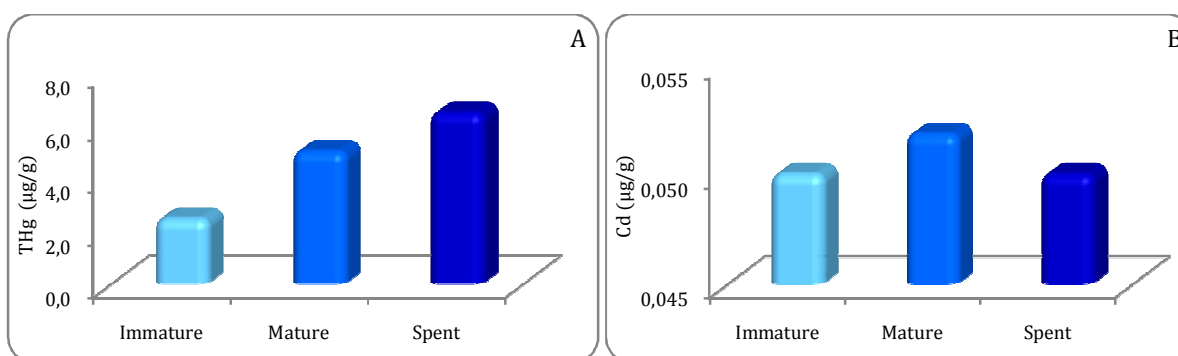


Fig.60 : Correlazione tra il mercurio totale (THg, µg/g dw) e la lunghezza totale (TL, in cm) e tra il mercurio totale (THg, µg/g dw) ed il peso totale (TW, in g) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula*.

Andamenti simili caratterizzano l'accumulo di cadmio e piombo nelle carni di *Scyliorhinus canicula* in funzione dello stadio di maturità: per entrambe le specie metalliche, infatti, le concentrazioni maggiori vengono riscontrate negli individui maturi (Fig. 61, Tab. 45). Nessuna differenza significativa, tuttavia, si evince dal confronto tra gli individui nei diversi stadi maturativi (Cd: K-W = 1.143, P-value > 0.05; Pb: K-W = 4.053, P-value > 0.05).

Per il mercurio, invece, è ancora una volta evidente un trend in accrescimento al procedere della maturazione sessuale (Fig. 61A). Le differenze nelle concentrazioni medie di mercurio totale nei diversi stadi di maturità (Tab. 45) vengono confermate statisticamente mediante il test di Kruskal-Wallis (THg: K-W = 25.773, P-value < 0.05).



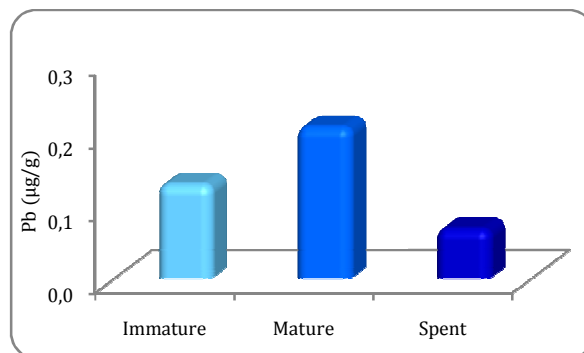


Fig.61: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* in relazione allo stadio di maturità.

Tab. 45: Concentrazione media (mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw), e piombo (Pb, µg/g dw) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* in relazione allo stadio di maturità.

THg	Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
Immature	2.461±1.044	42
Mature	5.014±1.605	32
Spent	6.482±3.911	60
Cd	Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
Immature	0.050±0.000	0
Mature	0.052±0.008	16
Spent	0.050±0.000	0
Pb	Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
Immature	0.130±0.297	228
Mature	0.209±0.322	154
Spent	0.068±0.045	66

Inoltre, correlazioni positive e significative, seppure non molto robuste, caratterizzano il rapporto tra l'indice gonadosomatico, i cui valori medi sono riportati in tabella 46, e l'accumulo di piombo e mercurio (THg: Spearman's rho = 0.522; P-value < 0.05 e R = 0.481; P-value < 0.05; Pb: Spearman's rho = 0.365; P-value < 0.05 e R = 0.404, P-value < 0.05).

Tab. 46: Concentrazione media e deviazione standard dell'indice epatosomatico (HSI) e gonadosomatico (GSI) negli individui immaturi, maturi ed in post-deposizione di *Scyliorhinus canicula*.

	HSI (Mean±SD)	GSI (Mean±SD)
Immature	5,145±1.393	0,546±0.307
Mature	5,165±1.525	4,129±2.005

Spent

6,730±1.185

3,923±2.169

Al contrario, correlazioni non significative vengono evidenziate per l'accumulo di cadmio ed il GSI (Cd: Spearman's rho = -0.179; P-value >0.05 e R = -0.107, P-value >0.05) e per tutti i metalli in relazione all'indice epatosomatico (THg: Spearman's rho = 0.092; P-value >0.05 e R = -0.127, P-value >0.05; Pb: Spearman's rho = 0.101; P-value >0.05 e R = 0.164, P-value >0.05; Cd: Spearman's rho = 0.080; P-value >0.05 e R = 0.090, P-value >0.05).

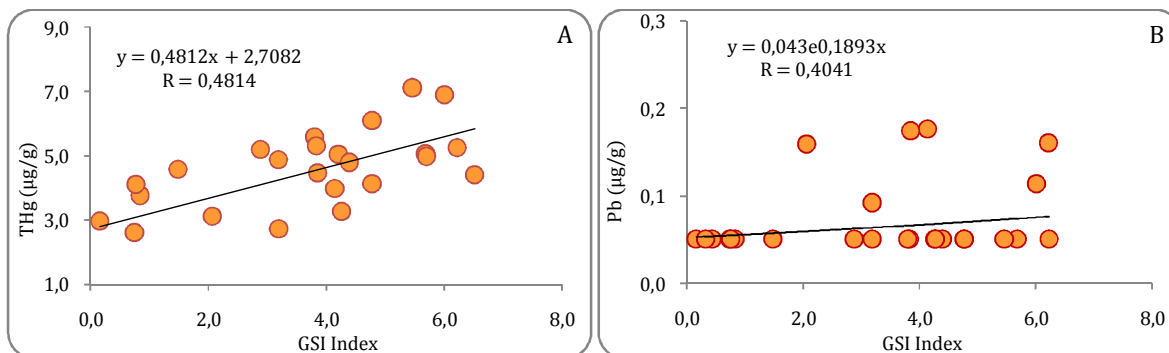


Fig. 62: Correlazione tra il mercurio totale (THg, µg/g dw) e l'indice gonadosomatico (GSI) e tra il piombo (Pb, µg/g dw) e l'indice gonadosomatico (GSI) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula*.

Una notevole variabilità, inoltre, caratterizza l'andamento delle concentrazioni di mercurio totale nelle carni di *Scyliorhinus canicula* per le diverse aree di campionamento. I valori minimi si osservano nelle zone 1, 6 e 7, corrispondenti alle coste ogliastrine, sulcitane e al golfo di Cagliari (Fig. 63A, Tab. 47), mentre i valori massimi sono caratteristici della zona 4 (Alghero), ed in particolare della zona 5 (Oristano) (Fig. 63A e Tab. 47). Tuttavia, l'applicazione del test di Kruskal-Wallis non ha evidenziato differenze significative tra le aree (THg: K-W = 11.575; P-value > 0.05).

Per il cadmio, invece, il picco massimo nelle concentrazioni si riscontra negli esemplari catturati nella zona 2 (Olbia) (Fig. 63B), mentre nelle restanti aree le concentrazioni sono molto simili, pertanto, non si evidenziano differenze significative (Cd: K-W = 7.999; P-value > 0.05) (Fig. 63B, Tab. 47). L'andamento delle concentrazioni di piombo risulta piuttosto vario, alternando valori di concentrazione elevati a valori decisamente più contenuti (Fig. 63C). Analogamente a quanto osservato per il cadmio, il tenore massimo di piombo viene riscontrato nelle carni degli individui catturati nella zona del Golfo di Olbia (Fig. 63C, Tab. 47). Anche da questo confronto, tuttavia, non emergono differenze significative (Pb: K-W=4.708; P-value > 0.05).

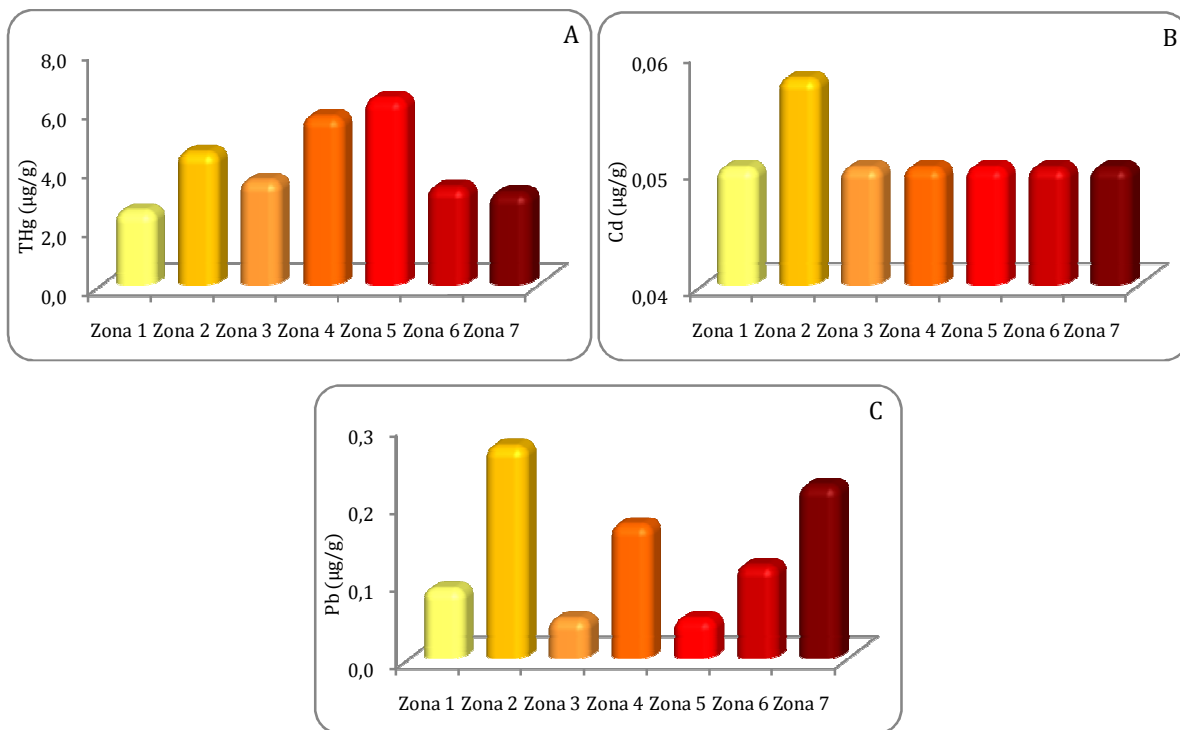


Fig. 63: Concentrazione media di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw) e piombo (Pb, µg/g dw) relativa al muscolo di *Scyliorhinus canicula* nelle differenti aree di campionamento.

Tab. 47: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) di mercurio totale (THg, µg/g dw), cadmio (Cd, µg/g dw) e piombo (Pb, µg/g dw) relativa al muscolo di *Scyliorhinus canicula* nelle differenti aree di campionamento.

THg	Mean ±SD (µg/g dw)	CV (%)
Zona 1	2.484±0.446	18
Zona 2	4.482±0.714	16
Zona 3	3.524±1.185	34
Zona 4	5.694±3.131	55
Zona 5	6.305±3.094	49
Zona 6	3.303±1.784	54
Zona 7	3.106±1.317	42
Cd	Mean ±SD (µg/g dw)	CV (%)
Zona 1	0.050±0.013	14

Zona 2	0.058±0.017	16
Zona 3	0.050±0.000	14
Zona 4	0.050±0.000	14
Zona 5	0.050±0.011	14
Zona 6	0.050±0.000	14
Zona 7	0.050±0.000	14
Pb	Mean ±SD (µg/g dw)	CV (%)
Zona 1	0.089±0.055	62
Zona 2	0.272±0.325	120
Zona 3	0.005±0.000	0
Zona 4	0.171±0.345	202
Zona 5	0.050±0.000	0
Zona 6	0.119±0.164	138
Zona 7	0.222±0.443	200

La concentrazione muscolare del mercurio totale in funzione della profondità di cattura degli individui sembra subire un decremento all'aumentare della profondità; tale decremento è più marcato oltre i 200 metri di profondità (Fig. 64A). Un andamento simile si riscontra per il piombo, seppure in questo caso il picco nelle concentrazioni si osservi in corrispondenza dello strato dei 50-100 m. Oltre queste batimetrie si osserva un brusco calo del tenore di piombo nel muscolo di *S. canicula* (Fig. 64E). Una sostanziale uguaglianza caratterizza, invece, le concentrazioni di cadmio riscontrate negli esemplari catturati nelle diverse fasce batimetriche (Fig. 64C). In nessun caso, tuttavia, sono state rilevate differenze significative (THg: K-W = 5, 675, P-value > 0.05; Pb: K-W = 3.093, P-value > 0.05; Cd: K-W = 1.368, P-value > 0.05).

L'analisi dell'accumulo di metalli negli individui catturati nella piattaforma e scarpata continentale suggerisce un decremento del tenore di piombo e mercurio totale all'aumentare della profondità (Fig. 64B, F). Nessuna andamento particolare viene invece riscontrato per il cadmio (Fig. 64D). Le concentrazioni medie per piattaforma e scarpata continentale differiscono statisticamente unicamente per il mercurio totale (THg: K-W = 5.181; P-value < 0.05; Pb: K-W = 0.549, P-value > 0.05; Cd: K-W = 0.552, P-value > 0.05).

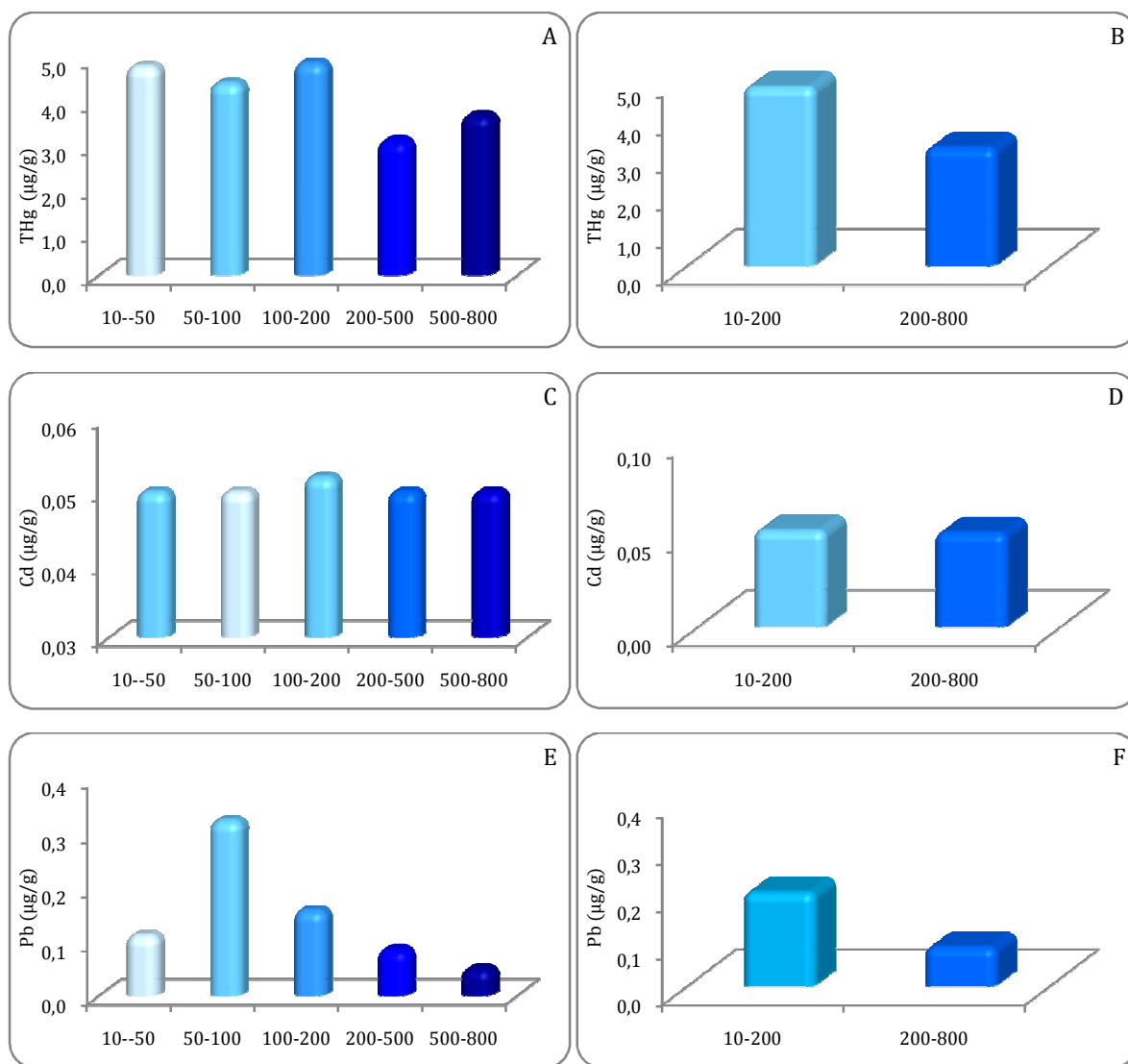


Fig. 64: Concentrazione media di mercurio totale (THg,  $\mu\text{g/g dw}$ ), cadmio (Cd,  $\mu\text{g/g dw}$ ), e piombo (Pb,  $\mu\text{g/g dw}$ ) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* in relazione alla profondità di campionamento.

La relazione tra l'aumento della profondità e la concentrazione degli elementi in traccia nel muscolo è stata verificata anche mediante l'analisi delle regressioni e del coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman.

Tab. 48: Concentrazione media (Mean), deviazione standard (SD), e coefficiente di variazione (CV) relativi al mercurio totale (THg,  $\mu\text{g/g dw}$ ), cadmio (Cd,  $\mu\text{g/g dw}$ ) e piombo (Pb,  $\mu\text{g/g dw}$ ) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* in relazione della profondità di campionamento.

Depth	THg Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g dw}$ )	CV (%)
10-50	4.826 $\pm$ 0.510	23
50-100	4.437 $\pm$ 1.323	21

100-200	4.899±2.971	23
200-500	3.105±1.812	15
500-800	3.690±0.000	18
Depth	THg Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-200	4.766±2.483	60
200-800	3.141±1.756	40
Depth	Cd Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-50	0.050±0.000	0
50-100	0.050±0.000	0
100-200	0.052±0.009	17
200-500	0.050±0.000	0
500-800	0.050±0.000	0
Depth	Cd Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-200	0.051±0.007	14
200-800	0.050±0.000	0
Depth	Pb Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-50	0.112±0.088	15
50-100	0.323±0.474	44
100-200	0.158±0.308	22
200-500	0.085±0.083	12
500-800	0.050±0.000	25
Depth	Pb Mean± SD (µg/g dw)	CV (%)
10-200	0.200±0.351	71
200-800	0.083±0.080	29

Una correlazione negativa significativa è stata riscontrata tra la concentrazione di mercurio totale e la profondità di campionamento (THg: Spearman's rho = -0.346; P-value < 0.05 e R = -0.342; P-value < 0.05), mentre correlazioni negative deboli e non significative caratterizzano il rapporto tra la concentrazione di cadmio e di piombo e la profondità di cattura degli esemplari (Cd: Spearman's rho = -0.074; P-value > 0.05 e R = -0.074; P-value > 0.05; Pb: Spearman's rho = 0.225; P-value > 0.05 e R = -0.241; P-value > 0.05).

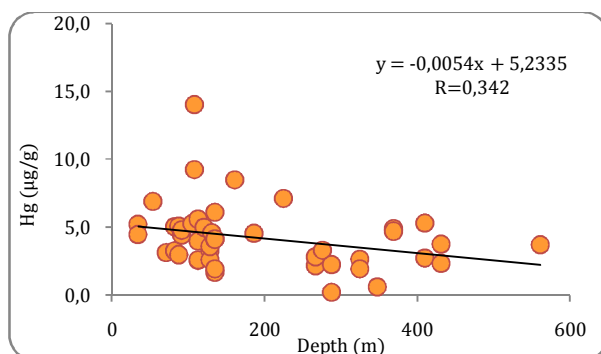


Fig. 65: Correlazione tra la concentrazione media di mercurio totale (THg,  $\mu\text{g/g dw}$ ) nel muscolo di *Scyliorhinus canicula* e la profondità di campionamento.

Infine, l'influenza del livello trofico occupato dalla specie sull'assorbimento dei metalli in esame è stata indagata utilizzando i valori di TROPH ottenuti in seguito all'analisi della dieta.

Correlazioni significative emergono dall'analisi della regressione tra la concentrazione di mercurio per stadio di maturità, taglia e profondità di campionamento. (TROPH-Stage: Spearman's  $\rho = 0.999$ , P-value  $< 0.05$  e  $R = 0.950$ ; P-value  $< 0.05$ ; TROPH-Size: Spearman's  $\rho = 0.997$ , P-value  $< 0.05$  e  $R = 0.886$ ; P-value  $< 0.05$ ; TROPH-Depth: Spearman's  $\rho = 0.900$ , P-value  $< 0.05$  e  $R = 0.974$ ; P-value  $< 0.05$ ). Nessuna significatività caratterizza, invece, la correlazione individuata tra il livello trofico della specie e la concentrazione di mercurio totale per area di campionamento (TROPH-Areas: Spearman's  $\rho = 0.043$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.036$ ; P-value  $> 0.05$ ).

Correlazioni robuste ma non significative caratterizzano il rapporto tra l'indice trofico e la concentrazione di cadmio per le aree di campionamento (TROPH-Areas: Spearman's  $\rho = -0.675$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.625$ ; P-value  $> 0.05$ ) e tra l'indice trofico e la concentrazione di cadmio in relazione allo stadio di maturità gonadica degli esemplari (TROPH-Stage: Spearman's  $\rho = 0.500$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.446$ ; P-value  $> 0.05$ ), mentre correlazioni molto deboli vengono riscontrate tra l'indice trofico e la concentrazione di cadmio nelle diverse classi di taglia (TROPH-Size: Spearman's  $\rho = -0.430$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.275$ ; P-value  $> 0.05$ ) e la concentrazione di cadmio e la variazione dell'indice trofico con la profondità (TROPH-Depth: Spearman's  $\rho = -0.051$ , P-value  $> 0.050$ ).

Per il piombo, infine, non vengono evidenziate correlazioni significative tra la concentrazione di questo metallo e l'indice trofico calcolato per taglia e stadio di maturità dell'individuo (TROPH-Size: Spearman's  $\rho = 0.500$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.275$ ; P-value  $> 0.05$  e TROPH-Stage: Spearman's  $\rho = 0.050$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.008$ ; P-value  $> 0.05$ ; TROPH-Areas: Spearman's  $\rho = 0.126$ , P-value  $> 0.05$  e  $R = 0.446$ ; P-value  $> 0.05$ ; TROPH-Depth: Spearman's  $\rho = 0.500$ , P-value  $> 0.050$  e  $R = 0.484$ ; P-value  $> 0.05$ ).



## Discussione

Le specie provenienti dalle acque mediterranee presentano maggiori concentrazioni di contaminanti persistenti rispetto a quelle atlantiche o originarie di mari non contaminati (Medina et al., 1986; Serra et al., 1993; Doganoc, 1995; Quazi et al., 1995; Celik et al., 2004; Bustamante et al., 2006; Dierking et al., 2009).

Questo è una conseguenza dell'inquinamento, dovuto all'intenso traffico navale ed alla presenza di numerose aree industriali lungo le coste, cui è soggetto l'intero bacino Mediterraneo (Regoli, 2007), nonché delle peculiari caratteristiche chimico-fisiche del Mediterraneo, un bacino semi-chiuso in comunicazione diretta con l'Oceano Atlantico (Lascaratos et al., 1999; Millot, 1999), che portano a tempi di turnover per le acque molto lenti (circa 90 anni) (Millot and Taupier-Letage, 2005; Dierking et al., 2009), e all'ingresso di acque Atlantiche superficiali, spesso ricche in contaminanti (Van Geen et al., 1988; Regoli, 2007).

Differenze speci-specifiche nell'accumulo dei metalli, dovute a diverse esigenze fisiologiche (Kalay et al., 1999), variazioni nell'attività metabolica (Heath, 1987; Langston, 1990; Roesijadi and Robinson, 1994), o nell'induzione di differenti meccanismi di detossificazione (Canli and Atli, 2003), vengono comunemente riportate per numerose specie (Frodello et al., 2000; Sandor et al., 2001; Burger et al., 2007; Fernandes et al., 2007; Kojadinovic et al., 2007), e per il nasello ed il gattuccio da Canli and Atli (2003) e Storelli et al. (2005), rispettivamente.

Durante la nostra analisi, livelli decisamente più alti di mercurio totale hanno caratterizzato la muscolatura di *S. canicula*, mentre il piombo ha raggiunto concentrazioni solo lievemente maggiori in *M. merluccius*. Nessuna differenza di rilievo, invece, è stata riscontrata per il cadmio, le cui concentrazioni sono sempre risultate molto basse e prossime al limite di detenzione dello strumento.

Le differenze riscontrate tra le specie esaminate potrebbero dipendere da una maggiore suscettibilità dei Selaci alla contaminazione in seguito all'esposizione a metalli pesanti come riscontrato per *S. canicula* da Jeffree et al. (2006) e da Mathews et al. (2008). Inoltre, tassi di assorbimento maggiori, nelle stesse condizioni sperimentali, sono stati dimostrati per *S. canicula* rispetto al teleosteo *Psetta maxima* (Jeffree et al., 2006).

Questa maggiore efficienza nell'assorbimento potrebbe essere imputabile a differenze nel derma dei due taxa in esame: la pelle dei Selaci, infatti, presenta uno spessore maggiore rispetto a quella dei Teleostei ed, inoltre, è composta per la maggior parte da collagene (Motta, 1977), in grado di assorbire considerevoli concentrazioni di metalli in traccia (Vas, 1987). Un'altra caratteristica anatomica che potrebbe spiegare il maggior assorbimento di mercurio in *S. canicula* è la presenza di squame placoidi nel derma: queste, con la loro particolare struttura, potrebbero coadiuvare il processo di uptake dermico. I principali componenti delle squame placoidi (collagene, glicosamminoglicani e apatite), le cui proporzioni variano con il processo maturativo (Reif, 1980; Sasagawa, 1997), infatti, mostrano una

elevata affinità per gli ioni metallici (Grillo et al., 1981; Passow, 2002). Le due specie differiscono anche in relazione alle abitudini vitali, decisamente più bentoniche per il gattuccio (Storelli et al., 1998a; Kalay et al., 1999), che indurrebbero quindi una maggiore esposizione di questa specie ai contaminanti stoccati nei sedimenti e ad una più consistente ingestione di organismi bentonici, notoriamente più ricchi in metalli pesanti (Bacci and Gaggi, 1998).

La concentrazione di mercurio muscolare per i nostri campioni di *M. merluccius* è sempre maggiore rispetto a quanto riportato da numerosi studi condotti in Mediterraneo o su esemplari catturati in acque atlantiche (Brown and Balls, 1997; Tyrrell et al., 2003; Plessi et al., 2001; Storelli et al., 2005; Storelli, 2008; Falco et al., 2006). Al contrario, il tenore di piombo e cadmio riscontrati per il muscolo di nasello sono risultati in linea coi valori noti dalla bibliografia (Schumacher et al., 1990; Cabrera et al., 1994; Brown and Balls, 1997; Mormede and Davies, 2001; Gaspic et al., 2002; Celik et al., 2004; Falco et al., 2006; Storelli, 2008).

Analogamente, la concentrazione di mercurio totale nel muscolo di *S. canicula* è decisamente maggiore rispetto a quanto riportato in letteratura da Cossa et al. (1990), Storelli et al. (2002, 2005), Domi et al., (2005), Tyrrel et al. (2003) per la Baia di Biscay, il Mar Adriatico, il Mar Celtico e le acque irlandesi rispettivamente. Nonostante Jeffree et al. (2006) e Mathews et al. (2008) abbiano riscontrato un assorbimento dermico del piombo piuttosto efficace in *S. canicula*, le concentrazioni dei nostri campioni sono risultate inferiori rispetto a quanto riportato da De Boeck et al. (2010) per il Mare del Nord. Lo stesso risultato è emerso per il cadmio: le concentrazioni riscontrate da Domi et al. (2005) sono 20 volte maggiori rispetto a quanto emerso dalle nostre analisi. Tuttavia, è noto che le concentrazioni di cadmio sono fortemente associate ai nutrienti fosforici ed inoltre, tendono a diminuire dalle zone polari verso quelle temperate (Fowler et al., 2007; Pierce et al., 2008). Le acque calde ed oligotrofiche del Mediterraneo potrebbero, pertanto, essere caratterizzate da concentrazioni basali di cadmio più basse di quanto osservato da Domi et al. per il Mare Celtico.

Valori piuttosto sostenuti del coefficiente di variazione, caratteristici degli elementi non essenziali che non rientrano nei normali meccanismi omeostatici (Bustamante, 1998; Bustamante et al., 2006), sono stati riscontrati soprattutto in relazione al tenore di piombo nel muscolo ad indicare differenze notevoli tra gli individui nella efficacia dei meccanismi di detossificazione attuati in seguito alla contaminazione da piombo.

Analizzando il livello di metalli nei due sessi, è emersa una lieve differenza nei tassi di accumulo per ambo le specie. Differenze di questo tipo sono riportate per numerose specie (Al-Yousuf et al., 2000; Fernandes et al., 2007; Kojadinovic et al., 2007; Coelho et al., 2008) e per *M. merluccius* e *S. canicula* da Canli e Atli (2003) e Coelho et al. (2010), rispettivamente. In particolare, le femmine di *M. merluccius* sono caratterizzate da maggiori livelli di piombo e mercurio totale rispetto ai maschi, mentre in *S. canicula* i tre metalli analizzati sono risultati sempre maggiormente concentrati nel campione

femminile. Tali differenze, imputabili a variazioni nell'attività metabolica proprie dei due sessi, però, non sono mai confermate dal punto di vista statistico.

Variazioni significative in funzione della taglia della concentrazione di mercurio totale e cadmio in *M. merluccius* e del mercurio totale in *S. canicula*, in linea con quanto osservato da numerosi autori per alcuni metalli non essenziali (White and Rainbow, 1987; Capelli et al., 1990; Lacerda et al., 1994; Bargagli et al., 1998; Burger et al., 2001; Storelli and Marcotrigiano, 2004; Storelli et al., 2005), sono emerse nel corso delle nostre analisi. Tali differenze sono presumibilmente legate alle variazioni ontogenetiche della dieta e del livello trofico che caratterizzano ambo le specie, come desunto grazie allo studio dei contenuti stomacali ed ipotizzato da Coelho et al. (2010). Individui di taglia maggiore, in grado di consumare prede più grandi, infatti, sarebbero maggiormente esposti alla contaminazione da metalli pesanti, soprattutto per quanto riguarda il mercurio totale (Burger et al., 2001; Casas and Bacher, 2006), data la sua tendenza a biomagnificare lungo la catena trofica (Mathews et al., 2008). Inoltre, correlazioni positive tra la concentrazione di mercurio totale e la taglia ed il peso degli individui sono emerse per ambo le specie, in accordo con numerosi studi (Burger et al., 2001; de Pinho et al., 2002; Storelli et al., 2002; Suk et al., 2009; Pierce et al., 2008; Suk et al., 2009; Pethybridge et al., 2010) e con quanto osservato per *M. merluccius* da Storelli et al. (2005) e per *S. canicula* da Storelli et al. (2002) e Domi et al. (2005), rispettivamente.

Alcuni autori (de Pinho et al., 2002; Kojadinovic et al., 2007; Bodiguel et al., 2009), inoltre, hanno dimostrato l'importanza della fase di maturità sessuale nell'accumulo e stoccaggio dei metalli pesanti. Nello specifico, durante la nostra analisi i diversi stadi di maturità sono risultati caratterizzati da differenti concentrazioni di mercurio totale per *M. merluccius* e di mercurio totale e piombo per *S. canicula*. Al contrario, nessuna variazione nel livello di cadmio legata alla fase riproduttiva emerge per ambo le specie.

Per il gattuccio inoltre, sono evidenti correlazioni positive tra l'indice gonadosomatico (GSI) e il tenore di piombo e mercurio. Comportamenti simili, probabilmente legati a variazioni nelle necessità energetiche legate al processo riproduttivo, vengono riportati per il mercurio totale in alcune specie di selaci ovovivipari (de Pinho et al., 2002) ed erano già stati osservati per *S. canicula* da Coelho et al. (2010).

Le concentrazioni di piombo e mercurio totale nella muscolatura degli esemplari di ambo le specie sono risultate notevolmente variabili in funzione dell'area di campionamento, soprattutto per quanto concerne la concentrazione di mercurio totale nel nasello. Differenze geografiche apprezzabili sono riportate di frequente nella letteratura sull'accumulo dei metalli nelle specie marine, e riflettono variazioni nelle fonti di contaminazione, nella disponibilità e varietà di prede, e nelle condizioni chimico-fisiche delle singole aree che possono fortemente influenzare il livello basale di metalli pesanti

nel mezzo (Schuhmacher et al., 1990; Burger et al., 2001; Canli and Atli, 2003; Casas and Bacher, 2006; Kojadinovic et al., 2007; Chouvelon et al., 2009; Dierking et al., 2009).

Analogamente, notevoli differenze nel tenore di piombo e mercurio totale in funzione della profondità sono emerse dall'esame delle due specie. In particolare, la concentrazione dei due elementi mostra un incremento al crescere della profondità in *M. merluccius*, mentre un andamento esattamente opposto caratterizza il tenore di mercurio totale e piombo nel muscolo di *S. canicula*.

Trend simili non vengono riportati in letteratura, tuttavia potrebbero essere imputabili a variazioni nella dieta, legate ad un cambiamento nella distribuzione batimetrica delle prede o nella loro disponibilità, oppure potrebbero riflettere differenze nella segregazione batimetrica delle due specie. Per *M. merluccius* è, infatti, nota una distribuzione più profonda per gli individui di dimensioni maggiori (Bozzano and Catalàn, 2002; Lloret et al., 2008), caratterizzati da maggiori concentrazioni di mercurio totale, come discusso precedentemente.

Al contrario, gli individui più piccoli di *S. canicula*, caratterizzati da tenori minori di piombo e mercurio, sembrano prediligere profondità maggiori (Rodríguez-Cabello et al., 1998, 2004, 2007). In aggiunta, i maschi maturi di gattuccio compiono migrazioni verticali verso acque superficiali (Sims, 2005) durante le ore di luce, in concomitanza con i nostri campionamenti. Le maggiori concentrazioni osservate nelle fasce batimetriche meno profonde, pertanto, potrebbero essere imputabili a questa differenza segregazione batimetrica.

L'influenza del livello trofico della specie sull'accumulo di contaminanti persistenti, mercurio in particolare, è stata ipotizzata da Young et al. (1980) e Mearns et al. (1981) fin dagli anni ottanta, e dimostrata recentemente dal lavoro di numerosi autori (Frodello et al., 2000; Burger et al., 2001; Storelli et al., 2002; Mathews et al., 2008; Kasper et al., 2009; Suk et al., 2009).

È infatti noto che le specie all'apice delle reti trofiche sono maggiormente esposte alla contaminazione da metalli pesanti, come suggerito da Domi et al. (2005), in virtù del maggiore tasso di feeding e del trasferimento di contaminanti persistenti osservato lungo la catena trofica. Fattori di bioaccumulo per il mercurio totale, compresi tra 2 e 5 per livello trofico, sono stati, infatti, stimati da Evans et al. (2000).

Una forte influenza del livello trofico sull'assorbimento di mercurio totale in *S. canicula* e di mercurio totale e cadmio per *M. merluccius*, soprattutto per quanto riguarda le variazioni dell'indice TROPH per classe di taglia e stadio di maturità, è stata dimostrata mediante l'analisi delle regressioni e del coefficiente di correlazione di Spearman. Nessuna correlazione tra il tenore di piombo e le variazioni del livello trofico è stata, invece, evidenziata per ambo le specie.

## VALUTAZIONE DEL RISCHIO PER LA SALUTE UMANA

### Introduzione

A livello mondiale il contributo dei prodotti ittici nella dieta ha raggiunto la cifra record di circa 17 kg/anno a persona, fornendo a oltre tre miliardi di persone il 15% dell'apporto totale di proteine di origine animale. Questa percentuale raggiunge il 50% in molti piccoli stati insulari e paesi in via di sviluppo (Bangladesh, Cambogia, Guinea Equatoriale, Guinea Francese, Gambia, Ghana, Indonesia e Sierra Leone), in cui il consumo di pesce è molto sostenuto (Burger et al., 1999, 2001, 2003; FAO, 2010).

Di conseguenza, la pesca rappresenta un'attività economica molto importante in vaste aree del mondo (Burger et al., 2007). Circa 43.5 milioni di persone partecipano direttamente, a tempo pieno o parziale, ad attività di pesca da cattura o di acquacoltura, mentre altri 4 milioni di persone sono impiegati nel settore occasionalmente (FAO, 2010). Anche la pesca ai fini ricreazionali costituisce una fetta importante di approvvigionamento di specie ittiche, soprattutto in alcune aree del mondo dove rappresenta uno sport molto praticato (Burger et al., 2002).

All'interno dell'Unione Europea, il consumo medio pro capite dei prodotti ittici è pari a 22.5 kg (FAO, 2010). Il tasso italiano è leggermente superiore (~23 kg/anno), con un tasso di ingestione giornaliero di 63 g. La ripartizione del consumo sul territorio non è equa: in generale il sud e le zone costiere consumano maggiori quantità di pescato, essendo pertanto più esposte alla contaminazione da metalli pesanti (Storelli and Marcotrigiano, 2001; Storelli et al., 2005; FAO, 2010).

Il consumo di pesce è di fondamentale importanza per il mantenimento di un buon stato di salute in quanto fornisce minerali, vitamine e acidi grassi insaturi, indicati con la sigla inglese PUFAs, essenziali per il buon funzionamento dell'organismo (Burger et al., 2007; Storelli, 2008).

Il consumo regolare di prodotti ittici concorre alla riduzione del rischio di malattie cardiovascolari, limitando l'ipertensione media e prevenendo determinate tipologie di aritmia (Kris-Etherton et al., 2002). L'omega-3, inoltre, riduce il colesterolo e l'incidenza dei parti prematuri (Patterson, 1980).

Allo stesso tempo, tuttavia, il consumo di pesce rappresenta la principale via di esposizione per l'uomo a svariati contaminanti persistenti presenti negli ecosistemi acquatici (Llobet et al., 2003; Usero et al., 2003; Coelho et al., 2010).

I metalli pesanti, tra cui cadmio, mercurio e piombo, vengono considerati prioritari tra i contaminanti ambientali, in quanto rappresentano un gruppo di sostanze altamente tossiche con la capacità di

accumularsi nei tessuti degli organismi marini, venendo poi traslocate da un livello trofico all'altro all'interno delle reti trofiche (Mishra et al., 2007), fino a raggiungere concentrazioni elevatissime nelle specie al vertice (Domi et al., 2005; Storelli, 2008).

Effetti molto dannosi sulla salute umana, tra cui l'insorgenza di neoplasie e deficit gravi del sistema nervoso centrale, rappresentano le patologie più gravi, sono riconducibili al consumo prolungato di pesce contaminato da metalli (Luckey and Venugopal, 1977; IOM, 1991; IPCS, 1993; IARC, 1997; Zwieg et al., 1999; Hites et al., 2004). Il trasferimento dei contaminanti al feto tramite la placenta è stato, inoltre, dimostrato e collegato a numerosi casi di ritardo nello sviluppo neurologico in neonati le cui madri erano solite consumare pesce durante la gravidanza (NRC, 2000).

Differenti metodi sono stati proposti per la valutazione del potenziale rischio derivante dal consumo di pesce o organismi marini: tutti si basano su dosi soglia (RfD e PTWI) ottenute mediante saggi di tossicità.

I livelli di apporto settimanali “salubri” o PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake) per cadmio, piombo, mercurio totale e metilmercurio, sono stati fissati dal JECFA - Comitato sugli Additivi Alimentari dell'organo congiunto FAO/WHO (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (FAO-WHO, 2010). Valori prossimi alla soglia del PTWI, tuttavia, non necessariamente comportano rischi per la salute, soprattutto nel caso in cui l'esposizione a tali quantitativi sia non prolungata nel tempo (Al Othman, 2010).

L'RfD è una dose di riferimento, ottenuta dai saggi NOAEL, mediante l'applicazione di fattori di incertezza che riflettono le variazioni nei dati utilizzati per la determinazione della RfD. L'RfD è un utile termine di paragone nella valutazione dei potenziali effetti dei contaminanti chimici.

Generalmente, dosi inferiori all'RfD non vengono associate con rischi avversi per la salute, tuttavia non si può escludere categoricamente che tutte le dosi inferiori alla dose di riferimento siano accettabili o prive di rischio, nè tantomeno che dosi superiori comportino necessariamente effetti avversi (NRC, 1983; U. S. EPA, 2000).

Data l'esigenza di ottenere una buona conoscenza dell'apporto di metalli pesanti introdotto quotidianamente attraverso la dieta, al fine di valutare in maniera attendibile e su base locale il rischio per l'uomo associato al consumo di pesce, le concentrazioni di cadmio, piombo e mercurio caratteristiche del muscolo di *M. merluccius* e *S. canicula* sono state utilizzate per il calcolo di alcuni indici, comunemente utilizzati per questo tipo di valutazioni.

## Materiali E Metodi

La valutazione del rischio per la popolazione umana è stata condotta mediante l'uso di diversi indici, comunemente basati sui valori di PTWI e di RfD fissati dalla JECFA e dalla US EPA rispettivamente.

Le dosi settimanali tollerabili o PTWI per mercurio totale, metilmercurio, cadmio e piombo sono pari a 5, 1.6, 7 e 25 µg/kg di peso corporeo, mentre le dosi di riferimento (RfD) equivalgono a 0.0001 µg/g/giorno per mercurio e metilmercurio, 0.001 µg/g/giorno per il cadmio e 0.004 µg/g/giorno per il piombo.

Per il calcolo di tutti gli indici di rischio e degli apporti settimanali stimati (EWI), le concentrazioni normalmente espresse come microgrammi su grammi di peso secco (µg/g dw) sono state convertite a microgrammi su grammi di peso fresco (µg/g ww), secondo la relazione suggerita da Kojadinovic et al. (2007), Magalhaes et al. (2007) e Dierking et al. (2009):

$$WW = \frac{DW \times \% \text{ Water Content}}{100}$$

L'intake settimanale (EWI) derivante dal consumo di carni di *M. merluccius* e *S. canicula* per cadmio, piombo, mercurio totale e metilmercurio, è stato quantificato moltiplicando la concentrazione media per singola specie per il consumo settimanale medio di pesce per un individuo adulto della popolazione italiana, pari a 441 g/settimana (FAO, 2010 ).

Il valore di EWI relativo al metilmercurio è stato calcolato assumendo una concentrazione di mercurio organico pari a al 95% del tenore di mercurio totale, come suggerito da Hight e Corcoran (1987) e Bloom (1992) per i teleostei, e da Suk et al. (2009) per i selaci. Questa assunzione viene ormai comunemente accettata ed utilizzata nei regolamenti e programmi di monitoraggio come una accurata approssimazione del tenore di metilmercurio (Hight and Corcoran, 1987; Bloom, 1992; Suk et al., 2009).

Per il calcolo del consumo massimo ammettibile settimanale (MSWC), ovvero della porzione di tessuto edibile che dovrebbe essere consumata da una persona adulta di 60 kg di peso per superare la PTWI, è stata utilizzata la formula suggerita da Chouvelon et al. (2009), qui di seguito riportata:

$$MSWC = \frac{PTWI \times BW}{C}$$

In cui BW è il peso corporeo dell'individuo e C è la concentrazione del metallo, espressa in µg/g di peso fresco. Per le nostre analisi abbiamo utilizzato un peso standard di 60 kg,

L'RfD è stata impiegata nella quantificazione del quoziente di pericolo (HQ, Hazard Quotient) e del quoziente target di pericolo (THQ, Target Hazard Quotient).

Il quoziente di pericolo o "Hazard Quotient" (HQ) rappresenta il rapporto tra il livello di esposizione ad un contaminante ed un valore di screening, in questo caso la dose di riferimento (RfD), selezionato per la valutazione del rischio per questa sostanza. Nel caso l'esposizione superi il valore di tossicità potrebbero sorgere potenziali rischi per la salute per l'organismo esposto (US EPA, 2000), generalmente valori di HQ superiori a 1.0 indicano, infatti, la potenziale insorgenza di effetti non carcinogeni sulla salute umana (Chien et al., 2010).

Il quoziente di pericolo è stato calcolato seguendo la formula dell' US EPA (1989):

$$HQ = \frac{C_m \times IR}{RfD \times BW}$$

in cui  $C_m$  è la media geometrica della concentrazione del metallo.

Anche il rischio non carcinogeno legato al consumo di pesce è stato valutato mediante il quoziente target di pericolo (THQ, Target Hazard Quotient), inteso come il rapporto tra il livello di esposizione ad una singola sostanza per un determinato periodo di tempo e la dose di riferimento per quella stessa sostanza per un periodo simile di esposizione.

La formula utilizzata per la quantificazione del rischio è la seguente (US EPA, 2000):

$$THQ = \frac{EF * ED * IR * C}{RfD * BW * TA}$$

dove RfD è la dose di referenza; BW, il peso corporeo; TA, il tempo di esposizione medio per effetti non carcinogeni espresso in giorni; IR, è il tasso di ingestione, FI, la frazione ingerita proveniente da fonti contaminate; EF, la frequenza di esposizione ed ED la durata dell'esposizione in anni.

THQ assume un livello di esposizione sotto il quale è improbabile, anche per le categorie sensibili, sviluppare effetti avversi per la salute. Tuttavia, analogamente a quanto osservato per il quoziente HQ se il livello di esposizione supera la soglia (RfD) potrebbero derivare rischi per la salute soprattutto sul lungo termine.

Il quoziente THQ non fornisce una stima quantitativa della probabilità di una popolazione esposta di andare incontro ad effetti avversi sulla salute, ma offre indicazioni sul livello di rischio dovuto all'esposizione a contaminanti ambientali (Storelli, 2008).

La valutazione dei rischi carcinogeni, è stata condotta unicamente per il piombo attraverso l'uso del quoziente target di rischio carcinogeno (TR), calcolato secondo la formula (US EPA, 2000):



$$TR = \frac{EF * ED * IR * C * CSF}{BW * AT}$$

in cui CSF è il fattore carcinogeno fornito dal sistema integrato di informazioni sul rischio IRIS (USEPA, 2000), che nel caso del piombo è pari a  $8.5 \times 10^{-3}$  mg/kg/gg.

## Risultati

Il Regolamento Comunitario N. 1881/2006 fissa il tenore massimo per gli elementi analizzati nel muscolo di pesce. Le concentrazioni massime ammesse per mercurio totale, cadmio e piombo sono pari a 0.50, 0.05 e 0.30 mg/kg di peso fresco rispettivamente. Il tenore massimo per il metilmercurio varia tra 0.50 mg/kg di peso fresco per le specie non predatrici e 1.00 mg/kg di peso fresco per le specie al top delle reti trofiche (UNEP, 2008).

I valori di concentrazione di mercurio totale riscontrati durante la nostra analisi sono maggiori rispetto ai valori medi europei per *M. merluccius* e *S. canicula*, pari a 0,12 e 0,45 mg/kg ww rispettivamente (Directorate-General Health and Consumer Protection, 2004).

Sul totale, il 44% dei campioni di *M. merluccius* analizzati è risultato oltre il tenore massimo fissato dal reg. 1881/2006, mentre per il gattuccio la percentuale sale al 95%. Per quanto concerne il tenore di metilmercurio, considerando le nostre specie come predatrici, la percentuale di campioni oltre il limite tabellare costituisce il 10% del campione totale per il nasello, mentre rimane invariata per *S. canicula*.

Le concentrazioni medie di cadmio risultano piuttosto basse per entrambe le specie, conseguentemente, la percentuale di campioni oltre il limite è trascurabile (3% per *M. merluccius*, nessun campione per *S. canicula*), mentre, campioni oltre il valore di riferimento per il piombo costituiscono il 13% ed il 10% del totale per *M. merluccius* e *S. canicula* rispettivamente.

La stima dell'approvvigionamento settimanale (EWI) di mercurio totale per *M. merluccius* ci indica un apporto per la dieta piuttosto elevato e molto prossimo al limite di PTWI imposto dalla JECFA (Tab. 49). Nel caso del metilmercurio l'EWI supera ampiamente il PTWI (Tab. 49), mentre i valori stimati di EWI per cadmio e piombo sono inferiori al limite suggerito dalla JECFA (Tab. 49).

L'analisi riguardante *S. canicula*, ha prodotto risultati più allarmanti: l'apporto stimato per il mercurio totale ed il metilmercurio raggiunge valori molto superiori il limite di PTWI imposto dalla JECFA (Tab. 49), mentre analogamente a quanto emerso per *M. merluccius*, l'EWI relativo a cadmio e piombo è inferiore al valore di PTWI (Tab. 49).

Tab. 49: "Estimated Weekly Intake" (EWI) per mercurio totale (THg), metilmercurio (Me-Hg), cadmio (Cd), e piombo (Pb) stimato per un adulto di 60 kg di peso corporeo. Tutte le quantità sono espresse in µg/kg/giorno.

Species	THg	Me-Hg	Cd	Pb
<i>M. merluccius</i>	4,36	4,14	0,33	1,46
<i>S. canicula</i>	22,76	21,62	0,28	0,97

Un andamento simile si evidenzia per i valori di “Maximum Safe Weekly Consumption” (MSWC): per superare il PTWI per mercurio totale e metilmercurio è sufficiente consumare una porzione pari a circa 400 e 170 grammi di *M. merluccius* rispettivamente, mentre nel caso di *S. canicula* la porzione massima ammettibile equivale a meno di 100 grammi per il mercurio totale e a poco più di 30 grammi per il metilmercurio (Tab. 50).

Al contrario, il superamento del PTWI per cadmio e piombo comporterebbe l'ingestione di porzioni decisamente + consistenti per ambo le specie (8-10 kg) (Tab. 50).

Tab. 50: “Maximum Safe Weekly Consumption” (MSWC) per mercurio totale (THg), metilmercurio (Me-Hg), cadmio (Cd), e piombo (Pb) stimato per un adulto di 60 kg di peso corporeo. Tutte le quantità sono espresse in kg di peso fresco.

Species	MSWC			
	THg	Me-Hg	Cd	Pb
<i>M. merluccius</i>	0,404	0,170	9.269	7.550
<i>S. canicula</i>	0,077	0,033	10.988	11.389

Il calcolo del quoziente target di pericolo (THQ) valutato sulla base delle concentrazioni riscontrate nei nostri campioni, indica un potenziale pericolo in relazione al consumo *S. canicula* per quanto concerne l'apporto di mercurio totale e metilmercurio. I valori di THQ per questa specie, infatti, sono pari a 3.52 e 3.09 rispettivamente. Nessun rischio evidente emerge invece per *M. merluccius* (Tab. 51).

I valori di HQ conseguenti al consumo di *M. merluccius* e *S. canicula* rimangono sempre al di sotto di 1 escludendo, pertanto, la sussistenza di rischi per la salute umana.

Tab. 51: “Target Hazard Quotient” (THQ) e “Hazard Quotient” per mercurio totale (THg), metilmercurio (Me-Hg), cadmio (Cd), e piombo (Pb) in relazione al consumo di *M. merluccius* e *S. canicula*.

Species	THQ				HQ			
	THg	Me-Hg	Cd	Pb	Hg	Me-Hg	Cd	Pb
<i>M. merluccius</i>	0,623	0,592	0,005	0,005	0,00003	0,00003	0,00005	0,00049
<i>S. canicula</i>	3,252	3,090	0,004	0,003	0,00027	0,00026	0,00005	0,00034

Infine, il calcolo del quoziente di rischio carcinogeno è stato possibile unicamente per il piombo per cui un fattore di rischio certificato (Oral Slope Factor) pari a  $6.38 \times 10^{-5}$  per *M. merluccius* e a  $4.23 \times 10^{-5}$  per *S. canicula* per un individuo adulto del peso di 60 kg.

## Discussione

Da un punto di vista regolatorio, il consumo di entrambe le specie può ritenersi privo di rischi per quanto concerne l'apporto di cadmio e piombo, mentre potenziali rischi per la salute potrebbero sorgere in relazione all'apporto di mercurio totale e metilmercurio. Nel nostro studio, infatti, gli apporti settimanali stimati (EWI) per il metilmercurio per entrambe le specie e l'apporto settimanale stimato per il mercurio in *S. canicula* superano il limite fissato dal Comitato sugli Additivi Alimentari dell'organo congiunto FAO/WHO, mentre l'apporto settimanale stimato di mercurio in *M. merluccius* è poco inferiore al limite. Concentrazioni di mercurio sopra il limite tabellare sono comunemente osservate, soprattutto in specie che occupano livelli trofici elevati o che vivono a stretto contatto col fondale marino (Storelli et al., 2005).

Stime simili a quelle da noi riscontrate per *M. merluccius* vengono riportate per le acque atlantiche del versante portoghese da Guilherme et al. (2008), e per le coste catalane da Bocio et al. (2005) e Falcò et al. (2006). Al contrario, apporti settimanali inferiori sono stati riscontrati da Storelli et al. (2005) e Storelli (2008) per il Mar Adriatico ed il Mar Ionio e da Domingo et al. (2007) per le coste catalane. I valori di apporto settimanale stimati per cadmio e piombo sono, invece, inferiori al limite PTWI, nonostante siano maggiori delle stime riportate in letteratura (Domingo et al., 2007; Falcò et al., 2006; Storelli, 2008).

Analogamente, gli apporti settimanali stimati per il mercurio ed il metilmercurio per *S. canicula* appaiono decisamente maggiori rispetto ai valori riportati da Coelho et al. (2010) per le acque portoghesi. Sfortunatamente, in letteratura non esistono dati relativi agli apporti settimanali per cadmio e piombo, che comunque risultano inferiori al limite della PTWI. Tuttavia, un confronto con apporti generici calcolati complessivamente per più specie da Falcò et al. (2006) suggerisce che l'apporto di cadmio e piombo riscontrato nel nostro studio è in linea con i valori riferiti al Mediterraneo.

Inoltre, nonostante i valori di HQ siano sempre risultati inferiori a 1.0, indicando l'assenza di rischi per la salute umana legati al consumo regolare delle due specie analizzate, potenziali rischi per la salute umana sono emersi dall'esame dei valori del quoziente target di pericolo (THQ), molto superiori a 1 per il mercurio ed il metilmercurio in *S. canicula*.

Infine, i valori dell'indice di rischio carcinogenico (TR), valutato per ambo le specie unicamente per il piombo, sembrano non indicare particolari rischi sul lungo termine ed appaiono in linea con quanto riscontrato da Vieira et al. (2011) per tre specie pelagiche nell'Oceano Atlantico.

Concludendo, l'apporto stimato di cadmio e piombo derivante dal consumo di *M. merluccius* e *S. canicula* può considerarsi trascurabile, in quanto sempre largamente inferiore al limite suggerito dal Comitato sugli Additivi Alimentari dell'organo congiunto FAO/WHO. Ciononostante, è necessario sottolineare che tali rischi sono probabilmente sottostimati in quanto non considerano l'apporto di cadmio e piombo derivante dal consumo di altri cibi.

Al contrario, il contributo delle due specie all'apporto di mercurio e metilmercurio nella dieta della popolazione è considerevole, soprattutto per quanto concerne *S. canicula*. A questo riguardo è necessario tenere in considerazione che il gattuccio viene quasi unicamente consumato sottoforma di "burrida", una pietanza tipica della tradizione isolana, la cui preparazione prevede l'utilizzo anche del fegato dell'animale. Dato che il fegato rappresenta l'organo elitario per l'accumulo di molti metalli pesanti (Maher, 1983; Sorensen, 1991; Suñer et al., 1999; Frodello et al., 2000; Pedlar and Klaverkamp, 2002; Storelli et al., 2003; Guilherme et al., 2008), in relazione alla sua funzione detossificante, è lecito ipotizzare che l'apporto complessivo di mercurio totale e metilmercurio possa essere maggiore rispetto a quanto stimato sulla base delle sola concentrazione muscolare.

Inoltre, la stima dell'EWI è stata condotta su base nazionale senza valutare le variazioni regionali nel quantitativo di pesce consumato. Diversi autori (Storelli e Marcotrigiano, 2000; Storelli, 2008), infatti, hanno descritto tassi di ingestione di prodotti della pesca maggiori per le popolazioni del sud Italia e delle isole.

Infine, nella valutazione del rischio non sono state considerate le categorie maggiormente sensibili agli effetti tossici dei contaminanti analizzati. Studi recenti, infatti, hanno dimostrato che i tassi di assorbimento dei metalli nella popolazione umana sono molto variabili e dipendono fortemente da numerosi fattori tra cui il tipo di elemento e la sua speciazione, l'età, il sesso, e lo stadio di sviluppo del soggetto. Alcuni metalli pesanti, infatti, possono provocare danni gravi sulla salute umana (Dolbec et al., 2001; Carta et al., 2003; Llobet et al., 2003; Vieira et al., 2011) anche a basse concentrazioni, ed in particolar modo nei feti (Warfvinge, 1999; Oken and Bellinger, 2008; Chien et al., 2010), nei neonati (Choi et al., 1978; Johnsson et al., 2004) e nei bambini (Al Othman, 2010).

Pertanto, nonostante il consumo di pesce contribuisca al mantenimento di uno stato di salute ottimale, in quanto fornisce acidi grassi insaturi (PUFA) riducendo l'incidenza di determinate patologie, il consumo regolare di *M. merluccius* e di *S. canicula* in particolar modo deve essere valutato attentamente in relazione all'elevato tenore di mercurio e metilmercurio che caratterizza la porzione edibile di queste due specie. In particolar modo, determinate categorie di popolazione, cosiddette sensibili (bambini, donne in stato interessante o in fase di allattamento), dovrebbero evitare di consumare grossi quantitativi di nasello e gattuccio preferendo specie caratterizzate da tenori inferiori di mercurio organico ed inorganico.

## CONCLUSIONI

Negli ultimi anni, un numero notevole di studi è stato condotto in differenti nazioni del mondo con la finalità di determinare la concentrazione di metalli pesanti in numerose specie marine. La valutazione del bioaccumulo e degli effetti di tali contaminanti sugli organismi marini, infatti, è fondamentale per una corretta gestione delle risorse ambientali (Storelli, 2008; Bodiguel et al., 2009).

Inoltre, il consumo di pesce è ritenuto la principale fonte di mercurio, cadmio e piombo per l'uomo (Plessi et al., 2001; Coelho et al., 2010), specialmente in determinate aree geografiche, come per esempio il sud Italia e le isole, dove il consumo di pesce è particolarmente rilevante (Storelli and Marcotrigiano, 2001; Storelli et al., 2005).

Pertanto, dato che la salute umana è largamente determinata dalla dieta, che fornisce un adeguato quantitativo di nutrienti ma al contempo comporta l'esposizione ad agenti patogeni e contaminanti chimici (Martì-Cid et al., 2007), stimare il livello di esposizione legata al consumo di pesce contaminato è fondamentale per valutare esaustivamente il rischio ad esso associato (Domingo et al., 2007; Storelli, 2008).

Molti studi hanno riguardato specie mediterranee, caratterizzate da elevati tenori di contaminanti persistenti (Medina et al., 1986; Serra et al., 1993; Doganoc, 1995; Quazi et al., 1995; Celik et al., 2004; Bustamante et al., 2006; Dierking et al., 2009), in relazione alle peculiari caratteristiche chimico-fisiche del bacino; nessun lavoro ha valutato la concentrazione dei metalli pesanti in specie ittiche catturate nei mari sardi.

Tutto ciò ha fornito lo spunto per intraprendere uno studio sull'accumulo dei tre metalli pesanti più tossici ed ampiamente distribuiti nell'ambiente (mercurio, cadmio e piombo) in due specie ittiche commerciali, *Merluccius merluccius* e *Scyllorhinus canicula*, catturate frequentemente nei mari sardi, dedicando particolare attenzione all'influenza della dieta sul processo di uptake ed intake di questi elementi in traccia, e valutando, in ultima analisi, il rischio legato al consumo di queste due specie.

L'alimentazione, infatti, gioca un ruolo essenziale nel bioaccumulo di metalli pesanti, come osservato da numerosi autori (Suk et al., 2009; Coelho et al., 2008; Pethybridge et al., 2010), soprattutto per le specie al top delle reti trofiche (Boening, 2000; Coelho et al., 2010).

Dall'analisi della dieta è emerso che il comportamento alimentare delle due specie differisce per tipologia di prede selezionate e proporzioni con cui queste vengono consumate durante il ciclo vitale. Le differenze riscontrate si riflettono anche sul livello trofico proprio di ognuna delle specie, che appare leggermente superiore per *S. canicula*.

Lo spettro trofico del gattuccio è risultato, infatti, molto più ampio rispetto a quanto riscontrato per *M. merluccius*, in quanto costituito da una maggiore varietà di prede, molte delle quali bentoniche.

Anche i tassi di alimentazione propri delle due specie sono risultati differenti e più sostenuti per *S. canicula*, come confermato dall'analisi dell'indice di vacuità.

In accordo con quanto riportato in letteratura, la dieta non appare differenziarsi per gli esemplari femminili e maschili, ne pare subire modificazioni in relazione allo stadio del ciclo riproduttivo dell'individuo (Velasco and Olaso, 1998; Carpentieri et al., 2005; Rodriguez-Cabello et al., 2007).

Variazioni ontogenetiche importanti, osservate per ambo le specie, sono probabilmente un riflesso di cambiamenti nella distribuzione batimetrica ed una conseguenza delle modifiche nella capacità sensoriale e nelle dimensioni degli organismi associati all'accrescimento.

Come osservato da numerosi autori (Papaconstantinou and Stergiou, 1995; Velasco and Olaso, 1998; Cartes et al., 2009), inoltre, la dieta varia notevolmente in funzione dell'area di cattura degli esemplari, in seguito a variazioni geografiche nella disponibilità ed abbondanza delle diverse categorie di prede. Ciononostante, il livello trofico non risente di queste variazioni indicando una probabile capacità di adattamento all'assenza e/o alla scarsità delle prede "abituali" sviluppata da ambo le specie.

Le variazioni riscontrate in funzione della profondità invece sono ascrivibili a differenti segregazioni batimetriche, che caratterizzano gli individui di taglie diverse in *M. merluccius* e nei due sessi in *S. canicula*.

In accordo con quanto riscontrato in letteratura, una notevole variabilità ha caratterizzato i valori di concentrazione riscontrati per le due specie, rispecchiando le differenze nei feeding habits rilevate mediante l'analisi dei contenuti stomacali.

Le concentrazioni più elevate, osservate per *S. canicula*, sono infatti probabilmente legate ad un maggiore sfruttamento di organismi bentonici, caratterizzati da elevati tenori di metalli pesanti (Mondon et al., 2001), e a differenze nei tassi di assorbimento e nella suscettibilità alla contaminazione in seguito all'esposizione a queste sostanze, precedentemente dimostrati per la specie da Jeffree et al. (2006) e da Mathews et al. (2008).

Non è da escludere, inoltre, che l'assorbimento per via dermica rappresenti un contributo importante, seppure secondario, all'intake di metalli pesanti per il gattuccio, in relazione alle peculiari caratteristiche biochimiche e strutturali del derma della specie descritte in molteplici studi (Motta, 1977; Reif, 1980; Grillo, et al., 1981; Vas, 1987; Sasagawa, 1997; Passow, 2002).

Le variazioni ontogenetiche riscontrate in ambo le specie nelle concentrazioni degli elementi in traccia ed in particolar modo per il mercurio suggeriscono la maggiore tendenza al bioaccumulo di questo

elemento, che pertanto costituisce un maggiore pericolo per la salute umana rispetto a cadmio e piombo.

Differenze geografiche apprezzabili sono emerse per entrambe le specie e risultano in linea con quanto riportato di frequente nella letteratura sull'accumulo dei metalli nelle specie marine. Variazioni nelle fonti di contaminazione, nella disponibilità e varietà di prede, e nelle condizioni chimico-fisiche delle singole aree, infatti, possono influenzare in maniera significativa il livello basale di metalli pesanti (Schuhmacher et al., 1990; Burger et al., 2001; Canli and Atli, 2003; Casas and Bacher, 2006; Kojadinovic et al., 2007; Chouvelon et al., 2009; Dierking et al., 2009).

Il livello trofico sembra condizionare l'assorbimento di mercurio e cadmio in *M. merluccius*, mentre pare influenzare unicamente il tenore di mercurio in *S. canicula*. Nessuna correlazione emerge tra il livello trofico e l'assorbimento del piombo in entrambe le specie.

Infine, da un punto di vista regolatorio, il consumo di entrambe le specie può ritenersi privo di rischi per quanto concerne l'apporto di cadmio e piombo, mentre potenziali rischi per la salute potrebbero sorgere in relazione all'apporto di mercurio totale e metilmercurio, soprattutto per quanto riguarda *S. canicula*.

Gli apporti settimanali stimati per entrambe le specie per il cadmio ed il piombo, infatti, appaiono sempre abbondantemente inferiori al limite suggerito dal Comitato sugli Additivi Alimentari dell'organo congiunto FAO/WHO. Al contrario, le stime settimanali per il mercurio oltrepassano il PTWI nel caso di *S. canicula*, mentre per il metilmercurio entrambe le specie sono caratterizzate da apporti stimati superiori al limite suggerito dal JECFA. Conseguentemente, gli indici di rischio denotano un potenziale pericolo associato al consumo di queste specie, soprattutto in categorie sensibili quali bambini, neonati e donne in stato di gravidanza o allattamento.

Pertanto, nonostante il consumo di pesce contribuisca al mantenimento di uno stato di salute ottimale, in quanto fornisce acidi grassi insaturi (PUFA) riducendo l'incidenza di determinate patologie, il consumo regolare di *M. merluccius* e di *S. canicula* deve essere valutato attentamente in relazione all'elevato tenore di mercurio e metilmercurio che caratterizza la porzione edibile di queste due specie.

Devono inoltre, essere tenute in considerazioni eventuali sottostime nella valutazione del rischio potenziale, dovute a variazioni geografiche nel consumo di pesce, alla differente proporzione tra unità di peso corporeo e quantitativo di metallo ingerito, alla mancata considerazione nel computo complessivo dell'apporto derivante da altri cibi ed, infine, al consumo di porzioni edibili diverse dal muscolo, presumibilmente caratterizzate da concentrazioni differenti di metalli pesanti.



I risultati presentati in questo lavoro devono intendersi come preliminari. Ulteriori ricerche sono necessarie per meglio comprendere i meccanismi di bioaccumulo dei metalli pesanti nel biota e controllare i rischi derivanti dal consumo di organismi contaminati.

## BIBLIOGRAFIA

- Adams W.J., Kimerle R.A. and Barnet J.W. **1992**. Sediment quality and aquatic life assessment. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 1865-1875.
- Al Othman Z.A. **2010**. Lead contamination in selected foods from Riyadh City Market and estimation of daily intake. *Molecules*, 15: 7482-7497.
- Aldebert Y. and Morales-Nin B. **1992**. La croissance des juvéniles du merlu dans le Golfe du Lion : nouvelles méthodes d'approche. *Rapp. Comm. Int. Mer. Médit.*, 33: 281-282.
- Al-Yousuf M.H., El-Shahawi, M.S. and Al-Ghais S.M. **2000**. Trace metals in liver, skin, and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci. Tot. Environ.*, 256: 87-94.
- Amezaga-Herran R.H. **1988**. Análisis de los contenidos estomacales en peces: revisión bibliográfica de los objetivos y la metodología. *Inf. Tec. Inst. Esp. Oceanogr.*, 63: 1-74.
- Anderson R.V. **1978**. The effects of lead on oxygen uptake in the crayfish, *Orconectes virilis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 20: 394-400.
- Angelidis M.O. and Catsiki V.A. **2002**. Metal bioavailability and bioaccumulation in the marine environment: methodological questions. *CIESM Workshop Monograph, Monaco*.
- Ansari A.Z., Bradner J.E. and O'Halloran T.V. **1995**. DNAbend modulation in a repressor-to-activator switching mechanism. *Nature*, 374: 371-375.
- Bacci E. **1995**. Fortune e declino del mercurio nell'area amiatina. Implicazioni ambientali. *Regione Toscana*, Firenze.
- Bacci E. and Gaggi C. **1998**. Bioconcentrazione, bioaccumulo e biomagnificazione. *In: Ecotossicologia*. A cura di Vighi M., Bacci E. UTET, Torino. ISBN: 88-02-05371-5, pp: 143-152.
- Baldi F. **1997**. Metal Ions in Biological Systems, vol. 34. *Marcel Dekker Inc.*, NY, pp. 213-257.
- Barbante C., Schwikowski M., Döring T., Gäggeler H. W., Schotterer U., Tobler L., Van De Velde K., Ferrari C., Cozzi G. and Turetta A. **2004**. Historical record of European emissions of heavy metals to the atmosphere since the 1650s from Alpine snow/ice drilled near Monte Rosa. *Environ. Sci. Tech.*, 38: 4085-4090.
- Bargagli F., Monaci R., Sanchez-Hernandez J.C. and Cateni D. **1998**. Biomagnification of mercury in an Antarctic marine coastal food web. *Marine Ecology Progress Series*, 169:65-76.
- Barkay T., Turner R., S. Erwan and Horn J. **1992**. Mercury biotransformations and their potential for remediation of mercury contamination. *Biodegradation*, 3: 147-159.
- Barron M.G. **1995**. Bioaccumulation and bioconcentration in aquatic organisms. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, Jr., G.A. Cairns. J. (Eds.), *Handbook of Ecotoxicology*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 652-666.
- Bloom N.S. **1992**. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrates tissues. *Can. J. Aquat. Sci.*, 49: 1110-1117.

- Bocio A., Nadal M. and Domingo J. L. **2005**. Human exposure to metals through the diet in Tarragona, Spain: temporal trend. *Biol. Trace Elem. Res.*, 104: 193-201.
- Bodiguel X., Maury O., Mellon-Duval C., Roupsard F., Le Guellec A.M. and Loizeau V. **2009**. A dynamic and mechanistic model of PCB bioaccumulation in the European hake (*Merluccius merluccius*). *Journal of Sea Research*, 62: 124-134.
- Boening, D.W. **2000**. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40: 1335-1351.
- Boisson F., Cotret O., Teyssié J.L., El-Baradei M., and Fowler S.W. **2003**. Relative importance of dissolved and food pathways for lead contamination in shrimp. *Mar. Pollut. Bullet.*, 46: 1549-1557.
- Bollhöfer A., and Rosman K.J.R. **2001**. Isotopic source signatures for atmospheric lead: the Northern Hemisphere. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 65: 1727-1740.
- Bottos D., Manente S., Mao A., Manca D. and Perin G. **2005**. Bioaccumulo di metalli pesanti in *Mytilus galloprovincialis* in condizioni di aerazione tangenziale del sedimento. *15th Meeting of the Italian Society of Ecology*, Torino, 10 pp.
- Bowen S.H. **1983**. Quantitative description of the diet. In: *Nielsen L.A., Johnson D.L. (Eds.). Fisheries Techniques. American Fisheries Soc.*, Maryland, USA, pp. 325-336.
- Bowen, W. D. **1997**. Role of marine mammals in aquatic ecosystems. *Marine Ecology Progress Series*, 158: 267-274.
- Bozzano A. and Catalán I.A. **2002**. Ontogenetic changes in retinal topography of the European hake, *Merluccius merluccius*: implications for feeding and depth distribution. *Marine Biology*, 141: 549-559.
- Bozzano A., Recasens L. and Sartor P. **1997**. Diet of the European hake *Merluccius merluccius* (Pisces: Merlucciidae) in the western Mediterranean (Gulf of Lion). *Scientia Marina*, 61: 1-8.
- Bozzano A., Sard F. and Rios J. **2005**. Vertical distribution and feeding patterns of the juveniles European hake, *Merluccius merluccius* in the NW Mediterranean. *Fisheries Research*, 73: 29-36.
- Buat-Ménard P. and Duce R.A. **1987**. In: *Lead, Mercury, Cadmium, and Arsenic in the Environment* (eds Hutchinson, T. C. and Meema, K. M.) (Wiley, New York).
- Burger J. and Gochfeld M. **2004**. Mercury in canned tuna: white versus light and temporal variation. *Environ. Res.*, 96(2):239-249.
- Burger J., Gaines K.F., Shane Boring C., Stephens Jr. W.L., Snodgrass J. and Gochfeld M. **2001**. Mercury and Selenium in fish from the Savannah River: Species, Trophic Level, and Locational differences. *Environmental Research – Section A*, 87: 108-118.
- Burger J., McDermott M.H., Chess C., Bochenek E., Perez-Lugo M. and Pflugh K.K. **2003**. Evaluating risk communication about fish consumption advisories: efficacy of a brochure versus a classroom lesson in Spanish and English. *Risk Anal.*, 23(4):791-803.

- Burger J., Pflugh K.K., Lurig L., von Hagen L.A. and von Hagen S.A. **1999**. Fishing in urban New Jersey: ethnicity affects information sources, perception, and compliance. *Risk Anal.*, 19(2):217-229.
- Burton, M.A.S. **1990**. Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 104: 267-280.
- Bustamante P., Lahaye V., Dumez C., Churlaud C. and Caurant F. **2006**. Total and organic Hg concentrations in cephalopods from the North Eastern Atlantic waters: Influence of geographical origin and feeding ecology. *Science of the Total Environment*, 368: 586-596.
- Bustamante, P. **1998**. Etude des processus de bioaccumulation et de detoxications d'elements traces (metaux lourds et terre rares) chez les mollusques cephalopods et bivalves pectinides. Implication de leur biodisponibilité pour le transfert vers les predateurs. *Thesis, University of La Rochelle*, 290 pp.
- Bustamante, P., Grigioni S., Boucher-Rodoni R., Caurant F. and Miramand P. **2000**. Bioaccumulation of 12 trace elements in the tissues of the nautilus *Nautilus macromphalus* from New Caledonia. *Marine Pollution Bulletin*, 40(8): 688-696.
- Cabrera C., Lorenzo M.L., Gallego C., Lòpez M.C., and Lillo E. **1994**. Cadmium contamination levels in seafood determined by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Microwave Dissolution. *J. Agric., Food Chem.* 42: 126-128.
- Canli M. and Atli G. **2003**. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.*, 121: 129-136.
- Capapé C. **1974**. Contribution a la biologie des Scyliorhinidae des cotes tunisiennes II.- *Scyliorhinus canicula* Linne, 1758: Regime alimentaire. *Annales, Institut Michel Pacha*, 7: 13-29.
- Capapé C. **1977**. Contribution à la biologie des Scyliorhinidae des côtes tunisiennes I. *S. canicula* (Linné, 1758): Répartition géographique et bathymétrique, sexualité, reproduction, fécondité. *Bull. Off. Natn. Pech. Tunisie*, 1: 83-101.
- Capapé C., Reynaud C., Vergne Y. And Quignard J.P. **2008**. Biological observations on the smallspotted catshark *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) off the Languedocian coast (southern France, northern Mediterranean). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences.*, 3(3): 282-289.
- Capapé C., Tomasini J.A., and Bouchereau J.L. **1991**. Observations sur le biologie de reproduction le petite roussette *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) (Pisces, Scyliorhinidae) du golfe du Lion (France méridionale). *Ichthyophysiological Acta*, 13: 87-109.
- Capelli R., Minganti V. De Pellegrini R. and Fiorentino F. **1990**. Mercury (total and organic) and selenium in *Pagothenia bernachii* (Boulenger, 1902) from Terra Nova Bay (Antarctica). Results after two years of research. In: Cescon P. (Eds.) *Environmental impact in Antarctica. National Research Council*, Rome, p. 47-54.
- Carbonell A., Alemany F., Merella P., Quetglas A. and Roman E. **2003**. The By-catch of sharks in the western Mediterranean (Balearic Islands) trawl fishery. *Fish. Res.*, 61: 7-18.

- Carpentieri P., Colloca F., Cardinale M., Belluscio A. and Ardizzone G.D. **2005**. Feeding habits of European hake (*Merluccius merluccius*) in the central Mediterranean Sea. *Fish. Bull.*, 103: 411-416.
- Carrassón M., Matallanas J. and Casadevall M. **1997**. Feeding strategies of deep-water morids on the western Mediterranean slope. *Deep Sea Res.*, 44: 1685–1699.
- Carta, P., Flore, C., Alinovi, R., Ibba, A., Tocco, M.G. and Aru, G. **2003**. Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology*, 24: 617–623.
- Cartes J.E., Hidalgo M., Papiol V., Massuti E. and Moranta J. **2009**. Changes in the diet and feeding of the hake *Merluccius merluccius* at the shelf-break of the Balearic Islands: Influence of the mesopelagic-boundary community. *Deep-Sea Research I*, 56: 344-365.
- Casas S. and Bacher C. **2006**. Modelling trace metal (Hg and Pb) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, applied to the environmental monitoring. *Journal of Sea Research*, 56(2): 168-181.
- Casey J., and Pereiro J. **1995**. European hake (*Merluccius merluccius*) in the North-east Atlantic. In: (eds Alheit J, Pitcher TJ) *Hake: Biology, Fisheries and Markets*. Chapman and Hall, London.
- Celik, U. Cakli S. and Oehlenschlager J. **2004**. Determination of the lead and cadmium burden in some northeastern Atlantic and Mediterranean fish species by DPSAV. *European Food Research and Technology*, 218: 298–305.
- Cherchi A., Da Pelo S., Ibba A., Mana D., Buosi C. and Floris N. **2009**. Benthic foraminifera response and geochemical characterization of the coastal environment surrounding the polluted industrial area of Portovesme (south-western Sardinia, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 59: 281-296.
- Chien L.C., Gao C.S. and Lin H.H. **2010**. Hair mercury concentration and fish consumption: Risk and perceptions of risk among women of childbearing age. *Environmental Research*, 110: 123-129.
- Chouvelon T., Warnau M., Churlaud C., Bustamante P. **2009**. Hg concentrations and related risk assessment in coral reef crustaceans, molluscs and fish from New Caledonia. *Environmental Pollution*, 157: 331-340.
- Clarke K.R. and Gorley R.N. **2006**. Primer v6: User Manual/Tutorial. *Primer-E; Plymouth*, 190 pp.
- Coelho J.P., Reis A.T., Ventura S., Pereira M.E., Duarte A.C., and Pardal M.A. **2008**. Pattern and pathways for mercury lifespan accumulation in *Carcinus maenas*. *Mar. Pollut. Bull.*, 56: 1104-1110.
- Coelho J.P., Santos H., Reis A.T., Falcão J., Rodrigues E.T., Pereira M.E., Duarte A.C. and Pardal M.A. **2010**. Mercury bioaccumulation in the spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula*) from the Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, : 1372–1375.
- Colacci A.M. **2001**. Contaminanti persistenti nei prodotti ittici. Eccellenza Cancerogenesi Ambientale. Agenzia Regionale Prevenzione Ambiente Emilia Romagna, 78 pp.

- Collenot G. **1966**. Observations relatives au developpment au laboratoire dé embryons et d'individus juveniles de *Scyliorhinus canicula* L. *Cah. Biol. Mar.*, 7: 319-330.
- Compagno L.J.V. **1984**. Sharks of the world: an annotated and illustrated guide of shark species known to date. *FAO Species catalogue 4, Parts 1 and 2-FAO fisheries synopsis*, 125: 655 p. Rome: FAO.
- Compagno L.J.V., Dando M. and Fowler S. **2005**. Sharks of the world. *Princeton University Press*, Princeton.
- Coombs S.H. and Mitchell C.E. **1982**. The development rate of eggs and larvae of the hake, *Merluccius merluccius* (L.) and their distribution to the west of the British Isles. *Journal of Conservation and International Exploration Mer*, 40: 119-126.
- Correia, J.P., **2006**. Contribuição para o conhecimento da importância dos tubarões e raias na pesca em Portugal. PhD thesis. Applied Biology Department. Lisbon, Lisbon University. p. 227.
- Cortés E. **1997**. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 726-738.
- Cossa D. and Lassus P. **1988**. Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. *Rapports Scientifiques et Techniques n° 16*. IFREMER, Issy-les-Moulineaux, France.
- Cossa D., Thibaud, Y., Roméo, M. et Gnassia-Barelli, M. **1990**. Le mercure en milieu marin, biogéochimie et écotoxicologie. *Etudes en soutien à la définition des normes. Editions Ifremer*, Brest, France. 130 p.
- Das K., Beans C., Holsbeek L., Berrow S.D., Rogan E. and Bouquegneau, J. M. **2003**. Marine mammals from northeast Atlantic: evaluation of their trophic status by d13C and d15N and influence on their trace metal concentrations. *Marine Environmental Research*, 56: 349-365.
- Das K., Lepoint G., Loizeau V., Debacker V., Dauby P., and Bouquegneau, J. M. **2000**. Tuna and dolphin associations in the northeast Atlantic: evidence of different ecological niches from stable isotope and heavy metal measurements. *Marine Pollution Bulletin*, 40(2): 102-109.
- De Boeck G., Eyckmans M., Lardon I., Bobbaers R., Sinha A.K. and Blust R. **2010**. Metal accumulation and metallothionein induction in the spotted dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Comparative Biogeochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 155(4): 503-508.
- De Luca G., Furesi A., Leardi R., Micera G., Panzanelli A., Piu P.C. and Sanna G. **2004**. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) assessment in the sediments of the Porto Torres Harbor (Northern Sardinia, Italy). *Marine Chemistry*, 86: 15-32.
- De Pinho, A.P., Guimaraes, J.R.D., Martins, A.S., Costa, P.A.S., Olavo, G., Valentin, J., **2002**. Total mercury in muscle tissue of five shark species from Brazilian offshore waters: effects of feeding habit, sex, and length. *Environ. Res.* 89, 250- 258.

- Debacker V., Schiettecatte L.S., Jauniaux T. and Bouqueneau J. M. **2001**. Influence of age, sex, and body condition on zinc, copper, cadmium and metallothioneins in common guillemots (*Uria aalga*) stranded at the Belgian coast. *Marine Environmental Research*, 52: 427–444.
- Demestre M. and Sánchez P. **1998**. Spatio-temporal distribution of the European hake *Merluccius merluccius* off Catalan coast (Northwestern Mediterranean). *Rapp Comm Int Mer Médit* 35: 420-421.
- Denton G.R.W. and Burdon-Jones C. **1986**. Trace metals in fish from the Great Barrier Reef. *Marine Pollution Bulletin*, 17: 201-209.
- Dierking J., Wafo E., Schembri T., Lagadec V., Nicolas C. Letourneur Y. and Harmelin-Vivien M. **2009**. Spatial patterns in PCBs, pesticides, mercury and cadmium in the common sole in the NW Mediterranean Sea, a novel use of contamination biomarkers. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 1605-1614.
- Doganoc, D.Z. **1995**. Heavy metals concentrations in freshwater and marine fishes in period 1982–1993. *Zbornik Biotehniške Fakultete Univerze v Ljubljani (Slovenia)*. Kmetijstvo (Zoo- tehnika), 66: 89–97.
- Dolbec J, Mergler D, Larribe F, Roulet M, Lebel J and Lucotte M. **2001**. Sequential analysis of hairmercury levels in relation to fish diet of an Amazonian population, *Brazil. Sci. Total. Environ.*, 271: 87–97.
- Domi N., Bouqueneau J.M. and Das K. **2005**. Feeding ecology of five shark species of the Celtic Sea through stable isotope and trace metals analysis. *Marine Environmental Research*, 60: 551-569.
- Domingo J.L., Bocio A., Falcò G. and Llobet J.M. **2007**. Benefits and risks of fish consumption. Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*, 230: 219-226.
- Dourson, M.L. and J.F. Stara. **1983**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 3: 224-238.
- Du Buit M.H. **1996**. Diet of hake (*Merluccius merluccius*) in the Celtic Sea. *Fisheries Research*, 28: 381-394.
- Dunn O.J. **1964**. Multiple contrasts using rank sums. *Technometrics*, 6: 241-252.
- Eccles H. **1995**. Removal of heavy metals from effluents streams. Why Select a Biological Process? *International Biodeterioration and Biodegradation*, 5-16.
- Edwards J.W., Edyvane K.S., Boxall V.A., Hamann M. and Soole K.L. **2001**. Metal levels in seston and marine fish flesh near industrial and metropolitan centres in South Australia. *Mar. Poll. Bull.*, 26: 389–396.
- Eisler R. **1987**. Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U. S. Fish and Wildlife Service Patuxent Wildlife Research Center Laurel, MD 20708. *Biological Report* 85(1.10)



- Eisler R., Zaroogian G.E. and Hennekey R.J. **1972**. Cadmium uptake by marine organisms. *J. Fish. Res. Board Canada*, 29: 1367-1369.
- Ellis J.R. and Shackley S.E. **1997**. The reproductive biology of *Scyliorhinus canicula* in the Bristol Channel, U.K. *Journal of Fish Biology*, 51, 361–372
- Ellis, J. R., Pawson, M. G. and Shackley, S. F. **1996**. The comparative feeding ecology of six species of sharks and four species of ray (Elasmobranchii) in the north-east Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 76, 89–106.
- EMEP, **2006**. Inventory Review. Emission Data Reported to the LRTAP Convention and NEC Directive. Evaluation of Inventories of Heavy metals and POPs. Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, the European Monitoring and Evaluation Programme. *Technical Report MSC-W1/2006*, Oslo, Norway.
- Ettajani H., Berthet B., Amiard J.C., and Chevolot L. **2001**. Determination of Cadmium partitioning in microalgae and oysters: contribution to the assessment of trophic transfer. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 209-221.
- Evans D.W., Kathman R.D. and Walker W.W. **2000**. Trophic accumulations and depuration of mercury by blue crabs (*Callinectes sapidus*) and pink shrimp (*Penaeus duorarum*). *Mar. Environ. Res.*, 49: 419-434.
- Fabris G., Turoczy N.J. and Stagnitti F. **2006**. Trace metal concentrations in edible tissue of snapper, flathead, lobster, and abalone from coastal waters of Victoria, Australia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 286–292.
- Falcò G., Llobet J.M., Bocio A., Domingo J.L. **2006**. Daily intake of Arsenic, Cadmium, Mercury and Lead by Consumption of Edible Marine Species. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 6106-6112.
- FAO/WHO. **2010**. Summary and conclusions of the 61st meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA), *JECFA/61/SC*, Rome, Italy.
- Fernandes C., Fontainhas-Fernandes A., Peixoto F. and Salgado M.A. **2007**. Bioaccumulation of heavy metals in *Liza saliens* from the Esmoriz-Paramos coastal lagoon. *Portugal. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 426-431.
- Ferrara R., Mazzolai B., Lanzillatta E., Nucaro E. and Pirrone N. **2000**. Volcanoes as emission sources of atmospheric mercury in the Mediterranean basin. *Sci. Total Environ.* 259: 115-121
- Filer J.L., Booker C.G., and Sims D.W. **2008**. Effects of environment on electric field detection by small spotted catshark *Scyliorhinus canicula* (L.). *Journal of Fish Biology*, 72: 1450–1462
- Fisher W., Bauchot M.L. et Schneider M. **1987**. Fiches Fao d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Vol.1. Végétaux et Invertébrés. Publication FAO et commission de communautés européennes. Rome, FAO, Vol.1. 760 p.
- Flammang B.E., David Æ., Ebert A., Gregor Æ. and Cailliet M. **2008**. Reproductive biology of deep-sea catsharks (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) in the eastern North Pacific. *Environ. Biol. Fish.*, 81: 35–49.



- Florence T.M., Morrison G.M. and Stauber J.L. **1992**. Determination of trace elements speciation and the role of speciation in aquatic toxicity. *The Science of the Total Environment*, 125: 1-13.
- Fowler S.W., Villeneuve J.P., Wyse E., Jupp B. and de Mora S. **2007**. Temporal survey of petroleum hydrocarbons, organochlorinated compounds and heavy metal in benthic marine organisms from Dhofar, southern Oman. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 339-367.
- Friberg L., Nordberg G.F., Vouk V.B. **1986**. Handbook of the toxicology of metals. *Vol. II. Amsterdam, Elsevier*, pp. 130-184.
- Frodello J.P., Romeo M., Viale D. **2000**. Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution*, 108: 447-452.
- Gardfeldt K., Kock H., Lanzillotta E., Mamane, Y., Mas F., Melamed E., Nucaro E., Osnat Y., Prestbo E.,
- Gašpić Z.K., Zvonarić T., Vrgoč N., Odžak N. and Barič A. **2002**. Cadmium and Lead in selected tissues of two commercially important fish species from the Adriatic Sea. *Water Research*, 36: 5023-5028.
- George S.G. and Olsson P.E. **1994**. Metallothioneins as indicators of trace metal pollution. In: Kramer K.J.M., (Ed.), *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*. RC Press Inc.. Boca Raton , FL. Pp: 151-171.
- Gerdol R., Bragazza L., Marchesini R., Medici A., Pedrini P., Benedetti S., Bovolenta A. and Coppi S. **2002**. Use of moss (*Tortula muralis* Hedw.) for monitoring organic and inorganic pollution in urban and rural sites in Northern Italy. *Atmospheric Environ.*, 36, 4069-4075.
- Granado C. **1996**. Ecologia de Peces. *Universidad de Sevilla, Secretariado de Publicaciones*, serie: Ciencia, 45: 353 pp.
- Graney, J.R. Halliday A.N., Keeler G.J., Nriagu J.O., Robbins J.A. and Norton S.A. **1995**. Isotopic record of lead pollution in lake sediments from the northeastern United States. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59: 1715-1728.
- Grillo M.C., Guary J.C. and Fowler S.W. **1981** Comparative studies on transuranium nuclide biokinetics in sediment dwelling invertebrates. In: *Impacts of radionuclide releases into the marine environment*. IAEA Publ, Vienna, p 273-291.
- Guilherme S., Valega M., Pereira M.E., Santos M.A. and Pacheco M. **2008**. Antioxidant and biotransformation responses in *Liza aurata* under environmental mercury exposure – Relationship with mercury accumulation and implications for public health. *Marine Pollution Bulletin*, 56: 845-859.
- Handersen S. and Wratten S.D. **1998**. The effects of carbaryl exposure of the penultimate larval instars of *Xathocnemis zealandica* on emergence and fluctuating asymmetry. *Ecotoxicology*, 7, 297-304.

- Harris J. E. **1952**. A note on the breeding season, sex ratio and embryonic development of the dogfish *Scyliorhinus canicula* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.*, 31, 269–275.
- HELCOM, **2006**. Atmospheric supply of nitrogen, lead, cadmium, mercury and lindane to the Baltic Sea over the period 1996–2000. Helsinki Commission, Baltic Marine Environment Protection Commission. In: *Baltic Sea Environment Proceedings*, No. 101, Helsinki, Finland www.helcom.fi.
- Hight S.C. and Corcoran M.T. **1987**. Rapid determination of methyl mercury in fish and shellfish: method development. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 70(1): 24-30.
- Hiroshi O. **2002**. Process and techniques of stomach content analysis for fine scale dietary study of toothed whales. *Aquabiology*, 24(2): 161-165.
- Hites R.A., Foran J.A., Carpenter D.O., Hamilton M.C., Knuth B.A. and Schwager S.J. **2004**. Global assessment of organic contaminants in farmed salmon. *Science*, 303: 226-229.
- Hobman J.L. and Brown N.L. **1997**. Bacterial mercury resistance genes. In: *Metal Ions in Biological Systems*, 34: 527–568. Sigel, A., and Sigel, H. (eds). New York: Marcel Dekker.
- Hobman J.L., Wilson J.R. and Brown N.L. **2000**. Microbial mercury reduction. In: *Lovley, D.R. (Ed.), Environmental Microbe– Metal Interactions*. Am. Soc. Microbiol, Washington, pp. 177– 197.
- Holcombe G.W., Benoit D.A., Leonard L.M. and McKim J.M. **1986**. Long-term effects of lead exposure on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 1731-1741.
- Hollander M. and Wolfe D.A. **1973**. Nonparametric Statistical Methods, *John Wiley*, New York, pp: 503.
- Hudson R.J.M., Gherini S.A., Fitzgerald W.F. and Porcella D.B. **1995**. Anthropogenic influence on global mercury cycle: A model-based analysis. *Water, Air, and Soil Pollution*, 80: 265-272.
- Hylander L.D. **2001**. Global mercury pollution and its expected decrease after a mercury trade ban. *Water Air Soil. Pollut.*, 125: 331 –344.
- Hyslop E.J. **1980**. Stomach contents analysis. A review of methods and their application. *J. Fish. Biol.*, 17: 411-429.
- IARC, **1997**. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans, vol. 69. *IARC*, Lyon.
- Institute of Medicine (IOM). **1991**. Seafood Safety. *National Academy Press*, Washington DC.
- IPCS, **1993**. Environmental Health Criteria 140 Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls. *Geneva*, WHO.
- Ivory P., Jeal F. and Nolan C.P. **2004**. Age Determination, Growth and Reproduction in the Lesser-spotted Dogfish, *Scyliorhinus canicula* (L.). *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 35: 89–106.

- Jardas I. **1979**. Morphological, biological and ecological characteristics of the lesser spotted dogfish, *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) population in the Adriatic Sea. *Institut Za Oceanografiju Split* IV, 2–3.
- Jeffree R.A., Warnau M., Teyssi  J.L. and Markich S.J. **2006**. Comparison of the bioaccumulation from seawater and depuration of heavy metals and radionuclides in the spotted dogfish *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthys) and the turbot *Psetta maxima* (Actinopterygii : Teleostei). *Sci. Total Environ.*, 368: 839-852.
- Jewett S.C. and Naidu S. **2000**. Assessment of heavy metals in red king crabs following offshore placer glod mining. *Marine Pollution Bulletin*, 40(6): 478-490.
- Jimenez B.D. and J.J. Stegeman. **1990**. Detoxication enzymes as indicators of environmental stress on fish. pp. 67-79. In: Adams S.M. (Eds). *American Fisheries Symposium* 8, Maryland.
- Johnsson C., Saalsten G., Schutz A., Sjors and Barregard L. **2004**. Hair mercury level versus freshwater fish consumption in household members of Swedish angling societies. *Environmental Research*, 96: 257-263.
- Kai N., Hueda T., Takeda Y. and Kat A. **1987**. Accumulation of mercury and selenium in blue marlin. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53(9): 1697.
- Kaiser M.J. and Spencer B. E. **1994**. Fish scavenging behaviour in recently beam trawled areas. *Marine Ecology Progress Series*, 112: 41–49.
- Kalay M. Ay O., Canli M. **1999**. Heavy metals concentrations in fish tissues from the north-east Mediterranean sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 273.
- Kalmijn, A. J. **1971**. The electric sense of sharks and rays. *Journal of Experimental Biology*, 55, 371–383.
- Kasper D., Fernandes-Albuquerque-Palermo E., Monteiro-Iozzi-Dias A.C., Ferreira G.L., Pereira-Leit o R., Castelo-Branco C.W., Malm O. **2009**. Mercury distribution in different tissues and trophic levels of fish from a tropical reservoir Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 7(4): 751-758.
- Ketchum B.H., Zitko V. and Saward D. **1975**. Aspects of heavy metal and organohalogen pollution in aquatic ecosystems. In: *McIntyre A.D., and Mills C.F. (Eds). Ecological Toxicological Research. Effects of Heavy Metal and Organohalogen Compounds*. Plenum Press, New York, pp: 75-85.
- Kimber J.A., Sims D.W., Bellamy P.H. and Gill A.B. **2009**. Male–female interactions affect foraging behaviour within groupsof small-spotted catshark, *Scyliorhinus canicula*. *Animal Behaviour* 77: 1435–1440.
- Kingston H. M., Jassie, L. B. **1998**. Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice. *Eds.; American Chemical Society*, Washington, D.C.
- Kingston, H. M. and Haswell, S. J. **1997**. Microwave-Enhanced Chemistry Fundamentals, Sample Preparation, and Applications. *Eds.; American Chemical Society*, Washington, D.C.
- Kojadinovic J., Potier M., Le Corre M., Cosson R.P. and Bustamante P. **2007**. Bioaccumulation of

- trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environmental Pollution*, 146(2): 548-566.
- Kolmogorov A. **1933**. Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione. *Giornale dell'Istituto Italiano degli Attuari*, 4: 1-11.
- König W. **1986**. Ursachen und Einflußfaktoren für die Schwermetallgehalte von Böden und Kulturpflanzen – dargestellt anhand von Ergebnissen einer Erhebungsuntersuchung in Nordrhein - Westfalen. - Landesausschuss f. landwirtsch. Forsch., Erziehung u. irtschaftsberatung beim Min. f. Umwelt, Raumordn. u. Landwirtsch. d. Landes Nordrhein - Westfalen, Forschung u. *Beratung, Reihe C; Wiss. Ber. u. Diskussionsbeitr.*, 43,105 S.
- König W.U. and Krämer F. **1985**. Schwermetallbelastung von Böden und Kulturpflanzen in Nordrhein-Westfalen. - Schriftenreihe d. Landesanst. f. Ökolog. Landschaftsentwicklung und Forstplanung Nordrhein-Westfalen (LÖLF), 10, Recklinghausen.
- Kormanik G.A. **1993**. Ionic and osmotic environment of developing elasmobranch embryos. *Environmental Biology of Fishes*, 38: 233-240,1993.
- Krebs C.J. **1999**. Ecological methodology. *Addison Wesley*, California
- Kris-Etherton P.M., Harris S.W. and Lawrence J. **2002**. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Journal of the American Heart Association*, 106: 2747-2757.
- Kruskal W.H. and Wallis W.A. **1952**. Use of ranks in one-criterion analysis of variance. *J. Amer. Statist. Assoc.*, 47: 583-621.
- Kubawara J.S., Arai J., Topping B.R., Pickering I.J. and George G.N. **2007**. Mercury speciation in piscivorous fish from mining impacted reservoirs. *Environm. Sci. Technol.*, 41: 2745-2749.
- Lacerda L.D., Bidone E.D., Giumaraes A.F. and Pfeiffer W.C. **1994**. Mercury concentrations in fish from the Itacaiunas-Parauapebas River System, Carajas Region. *Amazon. Ann. Acad. Bras. Sci.*, 66: 373-379.
- Lafabrie C., Pergent G., Kantin R., Pergent-Martini C., Gonzalez J.L. **2007**. Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species. Validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor. *Chemosphere*, 68(11): 2033–2039.
- Lamborg C.H., Fitzgerald W.F., O'Donnell J., and Torgersen T. **2002**. A non-steady-state compartmental model of global-scale mercury biogeochemistry with interhemispheric atmospheric gradients. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(7): 1105-1118.
- Lane T.W. and Morel F.M.M. **2000**. A biological function for cadmium in marine diatoms. *PNAS*, 97: 4627–4631.
- Langston W.J. **1990**. Toxic effects of metals and the incidence of metal pollution in marine ecosystems. In: *Heavy Metal in the Marine*
- Langston W.J., and Spence S.K. **1995**. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 407-467.

- Lascaratos A., Roether W., Nittis K. and Klein B. **1999**. Recent changes in deep water formation and spreading in the eastern Mediterranean Sea: a review. *Progress in Oceanography*, 44: 5-36.
- Lekhi P.A. **2002**. Cadmium in the Coastal Marine Environment: Pathways for Cadmium in Oysters and Using the Cadmium: Phosphorus Ratio as an Indicator of Biogeochemical Processes. *PhD Thesis*, University of British Columbia.
- Leloup J. and Olivereau M. **1951**. Donnees biometriques comparatives sue la roussette (*Scyliorhinus canicula* L.) de la Manche et de la Mediterranee. *Vie et Milieu*, 2: 182-209.
- Lemly D.A. **1993**. Guidelines for evaluating selenium data from aquatic monitoring and assessment studies. *Environ. Monit. Assess.*, 28: 83-100.
- Lindqvist O., Johansson K., Aastrup M., Andersson A., Bringmark L., Hovsenius G., Håkanson L., Iverfeldt Å., Meili M. and Timm B. **1991**. Mercury in the Swedish environment - recent research on causes, consequences and corrective methods. *Water, Air and Soil Pollution*: 55.
- Llobet J.M., Falcò G., Casas C., Teixidò A. and Domingo J.L. **2003**. Concentrations of arsenic, cadmium, mercury and lead in common foods and estimated daily intake by children, adolescents, adults and seniors of Catalonia, Spain. *J. Agric. Food Chem.* 51, 838-842.
- Lloret J., Demestre M., and Sanchez-Pardo J. **2008**. Lipid (energy) reserves of European hake (*Merluccius merluccius*) in the north-western Mediterranean. *Vie et Milieu - Life and Environment*, 58(1): 75-85.
- Löfgren A. and Hammar H. **2000**. The phase out of leaded gasoline in the EU countries. A successful failure? Transportation Research, Part D. *Transport Environ.*, 5D.
- Lombarte A., and A.N. Popper. **1994**. Quantitative analysis of postembryonic hair cell addition in the otholitic endorgans of the inner ear of the European hake, *Merluccius merluccius* (Gadiformes, Teleostei). *The Journal of Comparative Neurology*, 345: 419-428.
- Loppi S. **2001**. Environmental distribution of mercury and other trace elements in the geothermal area of Bagnore (Mt. Amiata, Italy). *Chemosphere*, 45: 991-995.
- Loppi S., Putorti E., Pirintsos S.A., V. De Dominicis. **2000**. Accumulation of heavy metals in epiphytic lichens near a municipal solid waste incinerator (central Italy.) *Environmental Monitoring and Assessment*, 61: 361-371.
- Lyle J. M. **1983**. Food and feeding habits of the lesser spotted dogfish, *Scyliorhinus canicula* (L.), in Isle of Man waters. *Journal of Fish Biology*, 23, 725-737.
- Lyle J.M. **1981**. Feeding, utilization of food and growth in the lesser spotted dogfish *Scyliorhinus canicula* (L.), from Isle of Man waters. *Thesis Doctoral*, University of Liverpool.
- Macpherson E. **1981**. Regime alimentaire de *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810), *Etmopterus spinax* (L., 1758) et *Scymnorhinus licha* (Bonnaterre, 1788) en Mediterranee Occidentale. *Vie et Milieu*, 30: 139-148.

- Magurran A.E. **1988**. Ecological Diversity and its Measurements. *Princeton University Press*, Princeton.
- Maher W. **1983**. Inorganic Arsenic in marine organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 14: 308-310.
- Margalef R. **1972**. Ecologia marina. *Fundaciòn La Salle*. Ed. Dossat. Caracas. 7 11 pp.
- Martí-Cid R., Bocio A., Llobet J.M. and Domingo J.L. **2007**. Intake of chemical contaminants through fish and seafood consumption by children of Catatonia, Spain: health risks. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1968-1974.
- Martinic C.D., Nurnberg H.W., Stoeppler M. and Branca M. **1984**. Bioaccumulation of heavy metals by bivalves from Limfjord (North Adriatic Sea). *Mar. Biol.*, 81: 177-188.
- Mason R.P., Fitzgerald W.F. and Morel F.M. **1994**. Biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 58: 3191-3198.
- Massuti E. and Reñones O. **2005**. Demersal resource assemblages in the trawl fishing grounds off the Balearic Islands (western Mediterranean). *Sci. Mar.*, 69(1): 167-181.
- Mathews T., Fisher N.S., Jeffree R.A. and Teyssiè J.L. **2008**. Assimilation and retention of metals in teleost and elasmobranch fishes following dietary exposure. *Marine Ecology Progress Series*, 368: 1-12.
- Maynou F. and Cartes J. **1998**. Daily ration estimates and comparative studies of food consumption in nine species of deep.-water decapods crustaceans of the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 171: 221-231.
- Maynou F., Lleonart J., and Cartes J.E. **2003**. Seasonal and spatial variability of hake (*Merluccius merluccius*) in the NW Mediterranean. *Fish Res.*, 60: 65-78.
- Meaburn G.M. **1978**. Heavy metal contamination of Spanish mackerel, *Scomberomorus maculatus*, and king mackerel, *S. cavalla*. *Proceedings of the mackerel colloquium*, 16(March): 61-66.
- Mearns J. **1982**. Assigning trophic levels to marine animals. *Annual Report of Southern California Coastal Water Research Project*, pp., 125-141.
- Mearns J.A., Olson R.J., Young D.R. and Schafer H.A. **1981**. Trophic structure and the cesium-potassium ratio in pelagic ecosystems. *CalCOFi Rep.*, 22: 99-110.
- Medina J., Hernandez F., Pastor A., Beferull J.B. and Barbera C.J. **1986**. Determination of mercury, cadmium, chromium and lead in marine organisms by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Mar. Poll. Bull.*, 17: 41-44.
- Mellinger J., Wrissez F. and Alluchon-Gerard M.J. **1984**. Caracteres biometriques distinctifs de l'embryon et de ses annexes chez la roussette (*Scyliorhinus canicula*) de la Manche, comparee a celle de la Mediterranee, et determination precise du stade d'eclosion. *Cahiers de Biologie Marine* 25: 305-317.
- Melntyre J.K. and Beauchamp D. A. **2007**. Age and trophic position dominate bioaccumulation of mercury and organochlorines in the food web of Lake Washington. *Science of the Total Environment*, 372: 571-584.



- Metten H. **1939**. Studies on the reproduction of the dogfish. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Series B, 230, 217–238.
- Millot C. **1999**. Circulation in the western Mediterranean Sea. *Journal of Marine System*, 20: 423-442.
- Millot C. and Taupier-Letage I. **2005**. Circulation in the Mediterranean Sea. In: Saliot A. (eds.), *The Handbook of Environmental Chemistry*– Springer, Heidelberg, 5: 29-66.
- Mishra S., Bhalke S., Saradhi I.V., Suseela B., Tripathi R.M., Pandit G.G. and Puranik V.D. **2007**. Trace metals and organometals in selected marine species and preliminary risk assessment to human beings in Thane Creek area, Mumbai. *Chemosphere*, 69: 972–978.
- Mondon J.A., Duda S. and Nowak B.F. **2001**. Histological, growth and 7- thoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) activity responses of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* to contaminated marine sediment and Diet. *Aquatic Toxicology*, 54: 231–247.
- Morales-Nin B. and Moranta J. **2004**. Recruitment and post-settlement growth of juvenile *Merluccius merluccius* on the western Mediterranean shelf. *Sci. Mar.*, 68: 399-409.
- Morales-Nin B., Torres G.J., Lombarte A. and Recasens L. **1998**. Otolith growth and age estimation in the European hake. *J. Fish. Biol.*, 53: 1155-1168.
- Morales-Nin, B. and Aldebert Y. **1997**. Growth of juvenile *Merluccius merluccius* in the Gulf of Lions (NW Mediterranean) based on otolith microstructure and length-frequency analysis. *Fisheries Research*, 30: 77-85.
- Mormede S. and Davies I.M. **2001**. Heavy metal concentrations in commercial deep-sea fish from the Rockall Trough. *Continental Shelf Research*, 21: 899–916.
- Morte M.S. **2002**. Estudio de las relaciones troficas de algunos peces bentonicos de interes comercial del Golfo de Valencia (Mediterraneo occidental). *Tesis*. Departamento de Microbiologia y Ecologia. Universidad de Valencia, 193 pp.
- Motta P.J. **1977**. Anatomy and functional morphology of dermal collagen fibers in sharks. *Copeia*, 3: 454-464.
- Murozomi M., Chow T.J. and Patterson C.C. **1969**. Chemical concentrations of pollutant lead aerosols, terrestrial dusts and seasalts in Greenland and Antarctic snow strata. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 33: 1247-1294.
- Mytilineou, C., Politou C.-Y., Papaconstantinou C., Kavadas S., D'Onghia G. and Sion L. **2005**. Deep-water fish fauna in the Eastern Ionian Sea. *Belg. J. Zool.*, 135(2): 229-233.
- N'Da K. **1992** . Regime alimentaire du rouget de roche *Mullus surmuletus* (Mullidae) dans le nord du golfe de Gascogne. *Cybbium*, 16: 159-168.
- Nakhlè K., Cossa D., Claisse D., Beliaeff B., Simon S. **2007**. Cadmium and mercury in the Seine Estuary flounders and mussels: the results of two decades of monitoring. *ICES Journal of Marine Science*, 64(5): 929-936.

- Nakhlè, K.F. **2003**. Le Mercure, le Cadmium et le Plomb dans les eaux littorales libanaises: Apports et suivi au moyen de bioindicateurs quantitatifs (Eponges, Bivalves et Gasteropodes). PhD Thesis, Univeristy of Paris 7.
- National Research Council (NRC). **1983**. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. *NAS Press*, Washington, DC.
- National Research Council (NRC). **2000**. Toxicological effects of methylmercury. *National Academy Press*, Washington, DC.
- Neilson J.D. and Perry R.I. **1990**. Diel vertical migrations of marine fishes: an obligate or facoltative process?. *Advances in Marine Biology*, 26: 115-168.
- Niebor E. and Richardson D.H.S. **1980**. The replacement of the non-descript term heavy metals by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ. Pollut. Ser. B. Chem. Phys.*, 1: 3-26.
- Novelli E.L.B., Lopes A.M., Rodrigues A.S.E., Novelli Filho J.L.V.B. and Ribas B.O., **1999**. Superoxide radical and nephrotoxic eVect of cadmium exposure. *Int. J. Environ. Health Res.*, 9: 109–116.
- Nriagu J. and Becker C. **2003**. Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: global and regional inventories. *Sci. Total Environ.*, 304: 3-12.
- Nriagu J.O. **1980**. Production, uses and properties of cadmium. *Cadmium in the environment*. Editions Wiley and sons. 682 p.
- Nriagu J.O. **1989**. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* (338). pp. 44-47.
- Nriagu J.O. **1990**: The rise and fall of leaded gasoline. *Science of the Total Environment*, 92: 12-38.
- Nriagu J.O. **1992**. The rise and the fall of leaded gasoline. *Sci. Total Environ.*, 92: 13-28.
- Nriagu J.O., and Pacyna J.M. **1988**. Quantitative assessment of world-wide contamination of air, water and solis by trace metals. *Nature*, 338: 47-49.
- Nriagu, J.O. **1979**. The biogeochemistry of mercury in the environment. *Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam*.
- Okena E. and Bellinger D.C. **2008**. Fish consumption, methylmercury and child neurodevelopment. *Carr. Open Pediatr.*, 20(2): 178-183.
- Olafson R.F. **1984**. Prokaryotic metallothionein. *Internat. J. Peptide Protein Res.*, 24: 303-308.
- Olaso I. and Rodriguez-Marin E. **1995**. Alimentacion de veinte especies de peces demersales pertenecientes a la division VIIIc del ICES. Otono 1991. *Informes Tecnicos del Instituto Espanol de Oceanografia*, 157.
- Olaso I., Sanchez F., Rodriguez-Cabello C. and Velasco F. **2002**. The feeding behaviour of some demersal fish species in response to artificial discarding. *Scientia Marina*, 66: 301–311.



- Olaso I., Velasco F. and Perez N. **1998**. Importance of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) discarded in the diet of lesser-spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula*) in the Cantabrian Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 55: 331–341.
- Olaso I., Velasco F., Sánchez F., Serrano A., Rodríguez-Cabello C. and Cendrero O. **2004**. Trophic Relations of Lesser-Spotted Catshark (*Scyliorhinus canicula*) and Blackmouth Catshark (*Galeus melastomus*) in the Cantabrian Sea. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 35: 481–494.
- Olivar M.P., Quílez G. and Emelianov M. **2003**. Spatial and temporal distribution and abundance of European hake, *Merluccius merluccius*, eggs and larvae in the Catalan coast (NW Mediterranean). *Fish. Res.*, 60: 321–331.
- Oliver P. and Massutí E. **1995**. Biology and fisheries of western Mediterranean hake (*M. merluccius*). In *Hake: Biology, fisheries and markets*, Alheit J., Pitcher T.J. eds. London, Chapman and Hall: 182–202.
- Orsi Relini L., C. Papaconstatinou, S. Jukic-Peladic, A. Souplet, L. Gil de Sola, C. Piccinetti, S. Kavadas, and M. Rossi. **2002**. Distribution of the Mediterranean hake populations (*Merluccius merluccius* smiridus Rafinesque, 1810) (Osteichthyes: Gadiformes) based on 6 year monitoring by trawl-survey: some implications for management. *Scientia Marina*, 66: 21–38.
- Orsi-Relini L., Capparena M. and Fiorentino F. **1989**. Spatial–temporal distribution and growth of *Merluccius merluccius* recruits in the Ligurian sea. Observations on the 0 group. *Cybium* 13: 263–270.
- Orsi-Relini L., Zamboni A., Fiorentino F. and Relini G. **1997**. Vulnerabilità luce-dipendente del nasello (*Merluccius merluccius*) giovanile. *Biol. Mar. Medit.*, 4 (1): 256–262.
- Osborn A.M., Bruce K.D., Strike P. and Ritchie D.A. **1997**. Distribution, diversity and evolution of the bacterial mercury resistance (mer) operon. *FEMS Microbiol. Rev.*, 19: 239–262.
- OSPAR, **2006**. Review of actions on priority substances identified in background documents adopted by OSPAR (2006 update). In: *Hazardous Substances Series. OSPAR Commission*, London, UK. [www.ospar.org](http://www.ospar.org).
- Pacyna E.G., Pacyna J.M., Steenhuisen F. and Wilson S. **2006**. Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000. *Atmos. Environ.*, 40: 4048–4063.
- Pacyna J.M. and Keeler G.J. **1995**. Sources of mercury in the Arctic. *Water, Air Soil Pollut.*, 80: 621–632.
- Pacyna J.M. and Pacyna E.G. **2001**. An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environ. Rev.*, 9(4): 269–298.
- Pacyna J.M., Pacyna E.G. and Aas W. **2009**. Changes of emissions and atmospheric deposition of mercury, lead, and cadmium. *Atmospheric Environment*, 43: 117–127
- Pacyna J.M., Semb A. and Hanssen J.E.. **1984**. Emission and long-range transport of trace elements in Europe. *Tellus*, 364: 163–178.

- Palomera I., Pilar Olivar M. and Morales-Nin B. **2005**. Larval development and growth of the European hake *Merluccius merluccius* in the northwestern Mediterranean. *Scientia Marina*, 69(2). doi:10.3989/scimar.2005.69n2251.
- Pan-Hou H.S.K. and Imura N. **1981**. Role of hydrogen sulfide in mercury resistance determined by plasmid of *Clostridium cochlearium* T. *Archives of Microbiology*, 129(1): 49-52.
- Papaconstantinou C. and K.I. Stergiou. **1995**. Biology and fisheries of eastern Mediterranean hake (*M. merluccius*). In: *Hake: Biology, fisheries and markets*. Edited by Jurgen Alhet and Tony J. Pitcher. Chapman and Hall, London.
- Passow U. **2002**. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Progr. Ocean.*, 55: 287-333.
- Patterson C.C. **1980**. An alternative perspective - lead pollution in the human environment: origin, extent, and significance. In: *Lead in the Human Environment*. Washington, DC: National Academy Press, 165-249.
- Pauly D., Christensen V. and Walters C. **2000**. Ecopath, Ecosim, and Ecospace as tools for evaluating ecosystem impact of fisheries. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 697-706.
- Pedlar R.M., and Klavervkamp J.F. **2002**. Accumulation and distribution of dietary arsenic in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*. *Aquatic Toxicology*, 57: 153-166.
- Pethybridge, H., Cossa, D., Butler, E.C.V. **2010**. Mercury in 16 demersal sharks from southeast Australia: Biotic and abiotic sources of variation and consumer health implications. *Mar. Environ. Res.* 69: 18-26.
- Piana A., Sechi N., Masia M.D., Azara A., Muresu E. and Maisa A. **2006**. Monitoring on chemical and biological pollutants in sea waters of central-northern Sardinia. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 47: 49-55.
- Pielou E.C. **1984**. The interpretation of ecological data. A primer on classification and ordination. *John Wiley and Sons*. N. Y., 263 pp.
- Pierce G.J., Stowasser G., Hastie L.C. and Bustamante P. **2008**. Geographic, seasonal and ontogenetic variation in cadmium and mercury concentrations in squid (Cephalopoda: Teuthoidea) from UK waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 422-432.
- Pineiro C. and Sainza M. **2003**. Age estimation, growth and maturity of the European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) from Iberian Atlantic waters. *ICES Journal of Marine Science*, 60: 1086-1102.
- Pinkas L., Oliphant M.S. and Iverson I.L.K. **1971**. Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in Californian waters. - *California Department of Fish and Game Fish Bulletin*, 152: 1-105
- Pirrone N., Costa P., Pacyna J.M. and Ferrara R. **2001**. Mercury emissions to the atmosphere from natural and anthropogenic sources in the Mediterranean region. *Atmospheric Environment*, 35: 2997-3006.
- Plessi M., Bertelli P., Monzani A. **2001**. Mercury and Selenium content in selected seafood. *J. Food Compos. Anal.*, 14: 461-467.

- Pocock S.J., Delves H.T., Ashby D., Shaper A.G. and Clayton B.E. **1988**. Blood cadmium concentrations in the general population of British middle aged men. *Human Toxicol.*, 7: 95-103.
- Pyle D. and Mather T.A. **2003**. The importance of volcanic emissions for the global atmospheric mercury cycle. *Atmos. Environ.*, 37: 5115-5124.
- Quazi S., Banu C.P., Rahman M.M. and Sayeed S. **1995**. Mineral content of fresh water and marine fish species. *Proceedings of the third Asia-Pacific Food Analysis Network Conference on Food Analysis*. P.2 (IRRI call no. TX511 C65)
- Quero J.C. **1984**. Scyliorhinidae. In: *Fishes of the Northeastern Atlantic and the Mediterranean*. P. L. P. Whitehead, M. L. Bandot, J-C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds.), Paris, UNESCO, 510 p.
- Rainbow P.S. **1988**. The significance of trace metal concentrations in decapods. In: *Aspects of Decapod Crustaceans Biology*, eds. A.A. Fincham and P S. Rainbow, *Symposium of the Zoological Society of London*, 59: 291-313.
- Recasens L. **1992**. Dinàmica de població i pesqueria del lluç (*Merluccius merluccius*) al Golf de Lleó i la Mar Catalana. *PhD Thesis*, Univ Barcelona.
- Recasens L., A. Lombarte, B. Morales-Nin, and G. Torres. **1998**. Spatiotemporal variation in the population structure of the European hake in the NW Mediterranean. *Journal of Fish Biology*, 53: 387-401.
- Regoli F. **2007**. Metals in the Mediterranean Sea and measurement of organisms' health condition. *Rapp. Comm. Int. Mer. Médit.*, 38: 39.
- Reif W.E. **1980**. Development of dentition and dermal skeleton in embryonic Scyliorhinus canicula. *J. Morphol.*, 166: 275-288.
- REMPEC, **2008**. Study of Maritime Traffic Flows in the Mediterranean Sea, *Final report* prepared by Lloyd's MIU.
- Ritter J.A. and Bibler J.P. **1992**. Removal of mercury from waste water: large-scale performance of an ion exchange process. *Wat. Sci. Tech.*, 25: 165-172.
- Rodriguez-Cabello C., De La Gandara F. And Sanchez F. **1997**. Preliminary results on growth and movements of dogfish *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) in the Cantabrian Sea. *Oceanol. Acta*, 21: 363-370.
- Rodríguez-Cabello C., Sanchez F. and Olaso I. **2007**. Distribution patterns and sexual segregations of *Scyliorhinus canicula* (L.) in the Cantabrian Sea. *Journal of Fish Biology*, 70: 1568-1586.
- Rodriguez-Cabello C., Sanchez F. And Velasco F. **2005**. Growth of lesser spotted dogfish *Scyliorhinus canicula* (L., 1758) in the Cantabrian Sea based on tag return data. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35: 131-140.

- Rodriguez-Cabello C., Sánchez F., Fernández A., and Olaso I. **2004**. Is the lesser spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula*) population from the Cantabrian Sea a unique stock? *Fisheries Research*, 69: 57–71.
- Roesijadi G. and Robinson W.E. **1994**. Metal regulation in aquatic animals: mechanism of uptake, accumulation and release. In: Malins, D.C., Ostrander, G.K. (Eds.), *Aquatic Toxicology Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*. Lewis Publishers, London.
- Rosman K.J.R., Chilsom W., Boutron C.F., Candelone J.P. and Hong S. **1995**. Isotopic evidence to account for changes in the concentration of lead in Greenland snow between 1960 and 1988. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 58: 3265–3269.
- Rouch D.A., Parkhill J. and Brown N.L. **1995**. Induction of bacterial mercury- and copper-responsive promoters: functional differences between inducible systems and implications for their use in gene-fusions for in vivo metal biosensors. *J. Ind. Microbiol.*, 14: 249–253.
- Sanchez F. and Gil J. **2000**. Hydrographic mesoscale structures and Poleward Current as a determinant of hake (*Merluccius merluccius*) recruitment in southern Bay of Biscay. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 152–170.
- Sandor Z., Csengeri I., Oncsik M.B., Alexis M.N. and Zubcova E. **2001**. Trace metal levels in freshwater fish, sediment and water. *Environmental Science and Pollution Research*, 8(4): 265–268.
- Sasagawa I. **1997**. Fine structure of the cap enameloid and of the dental epithelial cells during enameloid mineralization and early maturation stages in the tilapia, a teleost. *J. Anat.*, 190: 589–600.
- Schetagne, R., Doyon J.F. and Fournier J.J. **2000**. Export of mercury downstream from reservoirs. *The Science of the Total Environment*, 260: 135–145.
- Schintu M. and Degetto S. **1999**. Sedimentary record of heavy metals in the industrial harbour of Portovesme, Sardinia (Italy). *The Science of the Total Environment*, 241: 129–141.
- Schintu M., Durante L., Maccioni A., Meloni P., Degetto S. and Contu A. **2008**. Measurement of environmental trace-metal levels in Mediterranean coastal areas with transplanted mussels and DGT techniques. *Marine Pollution Bulletin*, 57: 832–837.
- Schintu M., Marras B., Maccioni A., Puddu D., Meloni P. and Contu A. **2009**. Monitoring of trace metals in coastal sediments from sites around Sardinia, Western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*,
- Schroeder W.H. and Munthe J. **1998**. Atmospheric mercury – An overview. *Atmos. Environ.*, 32: 809–822.
- Schwikowski M., Barbante C., Doering T., Gaeggeler H.W., Boutron C., Schotterer U., Tobler L., Van de Velde K., Ferrari C., Cozzi G., Rosman K. and Cescon P. **2004**. Post-17th-Century Changes of European Lead Emissions Recorded in High-Altitude Alpine Snow and Ice. *Environmental Science and Technology*, 38(4): 957–964.

- Serra R., Carpena E., Torresani G., Andreucci A. and Grandini S. **1993**. Concentrations of Zn, Cu, Fe, and Cd in *Liza ramada* and *Leuciscus cephalus*. *Archivio Veterinario Italiano*, 44: 166–174.
- Shannon C.E. and Wiener W. **1963**. Mathematical theory of communication. *Univ. of Illinois Press*, Urbana.
- Shen Y.M. and Sangiah S. **1995**. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, ATPase, glutathione and hydroxyl free radicals in cadmium chloride induced testicular toxicity in mice. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 174–179.
- Shirahata H., Elias R.W. and Patterson C.C. **1980**. Chronological variations in concentrations and isotopic compositions of anthropogenic atmospheric lead in sediments of a remote subalpine pond. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 44, 149–162.
- Siebert P., Alston D.R., Jones K. **1991**. Toxic trace pollutants from incineration. *Environmental Programme*, 10: 1–12.
- Sims D.W. **2005**. Differences in habitat selection and reproductive strategies of male and female sharks. In: *Sexual Segregation in Vertebrates: Ecology of the Two Sexes* (Ed. by K. E. Ruckstuhl and P. Neuhaus), pp. 127–147. Cambridge: Cambridge University Press.
- Sims D.W., Nash J.P. and Morritt D. **2001**. Movements and activity of male and female dogfish in a tidal sea lough: alternative behavioural strategies and apparent sexual segregation. *Marine Biology*, 139, 1165–1175.
- Sims D.W., Wearmouth V.J., Southall E.J., Hill J.M. Moore P., Rawlinson K., Hutchinson N., Budd G.C., Righton D., Metcalfe J., Nash J.P. and Morritt D. **2006**. Hunt warm, rest cool: bioenergetic strategy underlying diel vertical migration of a benthic shark. *Journal of Animal Ecology*, 75: 176–190.
- Siviero L. **2002**. Unitizzazione dei traffici marittimi ed innovazione nelle funzioni portuali nel Mezzogiorno. *Università degli studi di Napoli "Federico II"- Dipartimento di Scienze Economiche e Sociali*, 16 pp.
- Slemr F., Brunke E.-G., Ebinghaus R., Temme C., Munthe J., Wangberg I., Schroeder W., Steffen A., Berg T. **2003**. Worldwide trend of atmospheric mercury since 1977. *Geographical Research Letters*, 30(10): 1516.
- Smirnov N.V. **1939**. Sur les écarts de la courbe de distribution empirique. *Recueil Mathématique N.S.*, 6: 3–26.
- Snodgrass J.W., Jagoe C.H., Bryan Jr. A.L. and Burger J. **2000**. Effects of trophic status, and wetland morphology, hydroperiod and water chemistry on mercury concentrations in fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 57: 171–180.
- Sommar J., Spain G., Sprovieri F. and Tuncel G. **2001**. Atmospheric mercury distribution in Northern Europe and in the Mediterranean region. *Atmospheric Environment* 35: 3019–3025.
- Sorensen E.M.B. **1991**. Metal Poisoning in Fish. Chapter 2, Arsenic. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 61–94.

- Stearns S.C. **1976**. Life-history tactics: a review of the ideas. *Quarterly Review of Biology*, 51: 3–47.
- Stergiou K.I. and Karpouzi V.S. **2002**. Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 11: 217-254.
- Storelli M.M. **2008**. Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: Estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2782–2788.
- Storelli M.M. and Marcotrigiano G.O. **2000**. Fish for human consumption: risk of contamination by mercury. *Food Addit. Contam.*, 17: 1007–1011.
- Storelli M.M. and Marcotrigiano G.O. **2001**. Total Mercury Levels in Muscle Tissue of Swordfish (*Xiphias gladius*) and Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea (Italy). *Journal of Food Protection*, 64(7): 1058-1061.
- Storelli M.M. and Marcotrigiano G.O. **2002**. Mercury speciation and relationship between mercury and selenium in liver of *Galeus melastomus* from the Mediterranean Sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69: 516–522.
- Storelli M.M. and Marcotrigiano G.O. **2004**. Content of mercury and cadmium in fish (*Thunnus alalunga*) and cephalopods (*Eledone cirrhosa*) from the southern eastern Mediterranean Sea. *Food Addit. Contam.*, 21: 1051-1056.
- Storelli M.M., Busco V.P. and Marcotrigiano G.O. **2005**. Mercury and arsenic speciation in the muscle tissue of *Scyliorhinus canicula* from the Mediterranean sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 75: 81–88.
- Storelli M.M., Ceci E., Marcotrigiano G.O. **2003**. Polychlorinated biphenyl, heavy metal, and methylmercury residues in hammerhead sharks: contaminant status and assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1035-1048.
- Storelli M.M., Giacomelli-Stuffer R., Marcotrigiano G.O. **2001**. Mercury accumulation and speciation in muscle tissue of different species of sharks from Mediterranean Sea (Italy). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 68: 201-210.
- Storelli M.M., Giacomini-Stuffer R., Storelli A. and Marcotrigiano G.O. **2005**. Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: a comparative study. *Mar. Pollut. Bull.*, 50: 1004–1007.
- Storelli M.M., Giacomini-Stuffer R., Storelli A., D'Addabbo R., Palermo C. and Marcotrigiano G.O. **2003**. Survey of total mercury and methylmercury levels in edible fish from the Adriatic Sea. *Food Addit. Contam.*, 20: 1114–1119.
- Sturges W.T. and Barrie L.A. **1989**. The use of stable lead 206/207 isotope ratios and elemental composition to discriminate the origins of lead in aerosols at a rural site in Eastern Canada. *Atmos. Environ.*, 28: 1645- 1657.
- Suedel B.C., Boraczek J.A., Peddicord R.K., Clifford P.A. and Dillon T.M. **1994**. Trophic transfer and biomagnifications potential of contaminants in aquatic ecosystems. *Rev. Environ.*

- Contam. Toxicol.*, 136: 21-89.
- Suk S.H., Smith S.E. and Ramon D.A. 2009. Bioaccumulation of mercury in pelagic sharks from the northeast Pacific Ocean. *CalCOFI Rep.*, 50: 172-177.
- Summers A.O. **1992**. Untwist and Shout: a Heavy Metal-Responsive Transcriptional Regulator. *Journal of Bacteriology*, 174(10): 3097-3101.
- Sumpter J. P. and Dodd J. M. **1979**. The annual reproductive cycle of the female lesser spotted dogfish *Scyliorhinus canicula* L. and its endocrine control. *Journal of Fish Biology*, 15, 687-695.
- Swan S.C., Geffen A.J., Morales-Nin B., Gordon J.D.M., Shimmield T., Sawyer T. and Massuti E. **2006**. Otolith chemistry: an aid to stock separation of *Helicolenus dactylopterus* (bluemouth) and *Merluccius merluccius* (European hake) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. *ICES Journal of Marine Science*, 63: 504-513.
- Sydeman W.J. and Jarman W.M. **1998**. Trace metals in seabirds, Steller sea lion, and forage fish and zooplankton from central California. *Marine Pollution Bulletin*, 36: 828-832.
- Thomason J.C., Conn W., Le Comte E. and Davenport J. **1996**. Effect of temperature and photoperiod on the growth of the embryonic dogfish, *Scyliorhinus canicula*. *J. Fish Biol.*, 49: 739-742.
- Thomason J.C., Davenport J. and Rogerson A. **1994**. Antifouling performance of the embryo and egg-case of the dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 74: 823-836.
- Tommasini S., Davier G.R. and Elliott T. **2001**. Lead Isotope composition of tree rings as biogeochemical tracers of heavy metal pollution: a reconnaissance study from Firenze, Italy. *Applied Geochemistry*, 15: 891-900.
- Tyrrell L., McHugh B., Glynn D., Twomwy M., Joyce E., Costello J. and McGovern E. **2003**. Trace metal concentrations in various fish species landed at selected Irish ports. *Marine Environment and Health Series*, 20, 19 pp.
- U.S. EPA. **1989**. The Risk Assessment Guidelines of 1986. Office of Health and Environmental Assessment, Washington, DC. EPA/600/8-87/045.
- United Nations Environment Programme (UNEP). **2008**. Global Mercury Assessment. *Switzerland: Geneva*, 266 pp.
- uptake in rainbow trout gills. *Am. J. Physiol.*, 253: 216-221.
- US EPA, **2000**. Risk-Based Concentration Table. *Philadelphia PA: United States Environmental Protection Agency*, Washington DC.
- Usero J., Izquierdo C., Morillo J. and Gracia I. **2003**. Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environ. Int.*, 29: 949-956.



- Van Assche, F.J. **1998**. A Stepwise Model to Quantify the Relative Contribution of Different Environmental Sources to Human Cadmium Exposure. *NiCad '98*, Prague, Czech Republic, September 21-22, 1998.
- Van Assche, F.J. and Ciarletta, P. **1992**. Cadmium in the Environment: Levels, Trends and Critical Pathways. *Edited Proceedings Seventh International Cadmium Conference* - New Orleans, Cadmium Association, London, Cadmium Council, Reston VA, International Lead Zinc Research Organisation, Research Triangle Park NC.
- Van Geen A., Rosener P., Boyle E. **1988**. Entrainment of trace-metal-enriched Atlantic-shelf water in the inflow to the Mediterranean Sea. *Nature*, 331: 423-426.
- Varekamp J.C., Buseck P.R. **1986**. Global mercury flux from volcanic and geothermal sources. *Appl. Geochem.*, 1: 65-73.
- Vas P. **1987**. Observations on trace metals concentrations in a carcharhinid shark *Galeorhinus galeus*, from Liverpool Bay. *Mar. Pollut. Bull.*, 18(4): 193-194.
- Vas P. **1991**. Trace metal levels in sharks from British and Atlantic waters. *Mar. Pollut. Bull.*, 22: 67-72.
- Velasco F. and Olaso I. **1998**. European hake *Merluccius merluccius* (L., 1758) feeding in the Cantabrian Sea: seasonal, bathymetric and length variations. *Fisheries Research*, 38: 33-44.
- Verboost P.M., Flik G., Lock R.A.C. and Wendelaar Bonga S.E. **1987**. Cadmium inhibition of  $\text{Ca}^{2+}$
- Veron A., Church T.M., Flegal A.R., Patterson C.C. and Erel Y. **1999**. Response of lead cycling in the surface Sargasso Sea to changes in tropospheric input. *J. Geophys. Res.* 98(18): 269-276.
- Vieira C., Morais S., Ramos S., Delerue-Matos C. and M.B.P.P. Oliveira. **2011**. Food and Chemical *Toxicology*, doi:10.1016/j.fct.2010.12.016
- von Storch H., Costa-Cabral M., Charlotte H., Feser F. Pacyna J. Pacyna E. and Kolb S. **2003**. Four decades of gasoline lead emissions and control policies in Europe: a retrospective assessment. *The Science of The Total Environment*, 311: 151-176.
- Wangberg I., Munthe J., Pirrone N., Iverfeldt A., Costa P., Ebinghaus R., Feng X., Ferrara R.,
- Watras C.J., Back R.C., Halvorsen S., Hudson R.J.M., Morrison K.A. and Wente S.P. **1998**. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs. *Sci. Total Environ.*, 219: 183-208.
- Wheeler A. **1978**. Key to the Fishes of Northern Europe. *London: Frederick Warne Ltd.*
- Wheeler M. **1996**. Measuring mercury. *Environmental Health Perspectives*, 104: 826-830.
- White S.L. and Rainbow P.S. **1982**. Regulation and Accumulation of Copper, Zinc and Cadmium by the Shrimp *Palaemon elegans*. *Marine Ecology Progress Series*, 8: 95-101.
- White S.L., and Rainbow P.S. **1987**. Heavy metals concentration and size effects in the mesopelagic decapod crustacean *Systellapsis debilis*. *Marine Ecology Progress Series*, 37: 147-151.



- Wiener J.G. and Spry D.J. **1996**. Toxicological significance of mercury in freshwater fish. *In: "Environmental Contaminants in wildlife: Interpreting Tissues Concentrations" (N.W. Beyer, G.H. Heinz, and A.W. Redmon-Norwood. Eds.), pp. 297-339. Lewis, Boca Raton , Florida.*
- Windell J.T. **1971**. Food analysis and rate of digestion. *In Methods for assessment of Fish Production in Fresh Waters, W.E. RICKER, 2<sup>nd</sup> ed.: 215-226 - Oxford : Blackwell Scientific Publications Edit.*
- World Health Organisation, (WHO). **1990**. ICPS Environmental Health Criteria, 101 (Methylmercury).
- World Health Organisation, (WHO). **1992**. Environmental Health Criteria 134 – Cadmium. *International Programme on Chemical Safety*.(IPCS) Monograph.
- Yoshioka P.M. **2008**. Misidentification of the Bray-Curtis similarity index. *Marine Ecology Progress Series*, 368: 309–310.
- Young D.R., Mearns A.J., Jan T.K., Heesen T.C., Moore M.D., Eganhouse R.P., Hershelman G.P. and Gosset R.W. **1980**. Trophic structure and pollutant concentrations in marine ecosystemsn of southern California. *CalCOFI Rep*, 21: 197-206.
- Zambardi T., Sonke J.E., Toutain J.P., Sortino F. and Shinohara H. **2009**. Mercury emissions and stable isotopic compositions at Vulcano Island (Italy). *Earth and Planetary Science Letters*, 277: 236-243.
- Zar J.H. **1999**. Biostatistical Analysis. Fourth Edition, *Prentice-Hall International*, INC.
- Zook E.G., Powell J.J., Hackley B.M. and Emerson J.A. **1976**. National marine fisheries service preliminary survey of selected seafood for mercury, lead, cadmium, chromium and arsenic content. *J. Agric. Food Chem.*, 24: 47-53.
- Zwieg R.D., Morton J.D. and Stewart M.M. **1999**. Source Water Quality for Aquaculture: A Guide for Assessment. *The World Bank*, Washington DC.

### Riferimenti legislativi

- REGOLAMENTO (CE) N. 333/2007 DELLA COMMISSIONE del 28 marzo 2007 relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di piombo, cadmio, mercurio, stagno inorganico, 3- MCPD e benzo(a)pirene nei prodotti alimentari. 29.3.2007 IT Gazzetta ufficiale dell'Unione europea.
- REGOLAMENTO (CE) N. 1881/2006 DELLA COMMISSIONE del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. 20.12.2006 IT Gazzetta ufficiale dell'Unione europea L 364/5
- DIRETTIVA 2001/22/CE DELLA COMMISSIONE dell'8 marzo 2001 relativa ai metodi per il prelievo di campioni e ai metodi d'analisi per il controllo ufficiale dei tenori massimi di piombo, cadmio, mercurio e 3-MCPD nei prodotti alimentari.

REGOLAMENTO (CE) N. 466/2001 DELLA COMMISSIONE dell'8 marzo 2001 che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari. 16.3.2001 IT Gazzetta ufficiale delle Comunità europee L 77/1.

## Comunicazioni orali e poster

- Mulas A., **Gastoni A.**, Porcu C., Culurgioni J., Cau A., Follesa M.C. 2009. New records of Chondrichthyans from Sardinian waters. Atti del 40° Congresso SIBM, Livorno, 26-29 Maggio 2009. *Biologia Marina Mediterranea* 16(1): 328-329. (in press).
- Porcu C., **Gastoni A.**, Podda B., Sabatini A. 2010. Ovaries development of *Parapenaeus longirostris* (CRUSTACEA: PENAEIDAE) in the Sardinian waters. *39th CIESM Congress*.
- Gastoni A.**, Locci I., Mulas A., Follesa M.C. 2010. On the reproduction of *Acantheephyra eximia* S. I. Smith, 1884 in the central western Mediterranean. *39th CIESM Congress*.

## Articoli su riviste scientifiche

- Cabiddu, S., Follesa, M.C., **Gastoni, A.**, Porcu, C., Cau, A. 2008. Gonad development of the deep-sea lobster *Polychaetes typhlops* (DECAPODA: POLICHELIDAE) from the Central western Mediterranean. *Journal of Crustacean Biology*, 28(3): 494-501.
- Follesa, M.C., Cannas, R., **Gastoni, A.**, Cabiddu, S., Deiana, A.M., Cau, A. 2008. Abnormal rostrum in *Polychaetes typhlops* Heller, 1862 (Decapoda: Polychelidae) from the Central western Mediterranean. *Journal Of Crustacean Biology*, 28 (4): 731-734.
- Follesa M.C., Porcu C., **Gastoni A.**, Mulas A., Sabatini A., Cau A. 2009 - Community structure of bathyal decapod crustaceans off south eastern Sardinian deep-waters (central western Mediterranean). *Marine Ecology*, 30(1): 188-199.
- Mulas A., **Gastoni A.**, Porcu C., Culurgioni J., Cau A., Follesa M.C. 2009. New records of Chondrichthyans from Sardinian waters. Atti del 40 Congresso SIBM, Livorno, 26-29 Maggio 2009. *Biologia Marina Mediterranea* 16(1): 328-329.
- Gastoni A.**, Bianchelli, S., Cau, A., Pusceddu A. 2010. Biochemical composition of a meso-bathyal lobster (*Polychaetes typhlops*, Heller, 1862 Decapoda, Palinura, Polychelidae). *Chemistry and Ecology*, 26(1): 73-79.
- Gastoni A.**, Follesa, M.C., Mulas, A., Porcu, C., Cau, A. 2010. Observations on *Polychaetes sculptus*, S.I. Smith, 1880 from Sardinian waters (Central Western Mediterranean). *Crustaceana*, 83(4): 443-456.

- Porcu, C., Mulas, A., Cabiddu S., **Gastoni A.**, Follesa, M.C. 2010. Reproductive Biology of the blonde ray *Raja brachyura* (Chondrichthyes: Rajidae) in Sardinian seas. *Biologia Marina Mediterranea* 17(1): 256-257.
- Follesa, M.C., **Gastoni A.**, Cabiddu S., Mulas, A., Porcu, C., Cau, A. 2010. On the reproduction of *AcanthePHYra eximia* S. I. Smith, 1884 in the central western Mediterranean. *Acta Zoologica*, submitted.

## **Ringraziamenti**

Desidero ringraziare il prof. Angelo Cau per avermi indirizzato verso questa nuova linea di ricerca ed avermi spronato durante questi tre anni.

Un ringraziamento va a tutto il Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia, ed in particolar modo alla dott.ssa Coluccia, mia tutor, alle dottoresse Cabiddu e Pesci ed al dottor Locci, per la disponibilità e pazienza dimostrata di fronte alle mie innumerevoli richieste d'aiuto.

Ringrazio anche il dottor Mulas, amico e collega d'avventure, coi cui ho condiviso gioie e dolori di questo percorso e senza il quale tutto sarebbe stato più difficile.

Un ringraziamento enorme va a Stefano ed alla mia famiglia, per aver capito il mio mutismo e tollerato i miei malumori in tutti questi mesi, e naturalmente ai miei amici per aver preso parte, tutti in maniera diversa, a questa tappa importante della mia vita.

Grazie a tutti davvero!!!

Alice